

**Chemische Untersuchungen
am Hautbindegewebe
bei progressiver Sklerodermie**

Walter Krämer

1964

Aus der Universitätsklinik für Haut- und Geschlechtskrankheiten
Frankfurt am Main

(Direktor : Prof. Dr. F. Herrmann)

CHEMISCHE UNTERSUCHUNGEN AM HAUTBINDEGEWEBE BEI
PROGRESSIVER SKLERODERMIE

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der gesamten Medizin der
Hohen Medizinischen Fakultät
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
zu Frankfurt am Main

vorgelegt von
Walter Krämer
aus Egelsbach

Frankfurt am Main 1963

Dekan : Prof. Dr. J. Frey
Referent : Prof. Dr. G. Leonhardi
Korreferent : Prof. Dr. E. Heinz
Mündliche Prüfung : 19. März 1964



Chemische Untersuchungen am Hautbindegewebe bei progressiver Sklerodermie

I. Einleitung

II. Allgemeiner Teil

- A. Klinische Laboratoriumsuntersuchungen
- B. Histologische Befunde
- C. Ergebnisse der Elektronenmikroskopie
- D. Röntgeninterferenzuntersuchungen
- E. Histochemische Befunde
- F. Chemische Befunde

III. Eigene Untersuchungen

- A. Material und Methoden
- B. Ergebnisse der Untersuchungen an normalem Gewebe
- C. Kasuistik der Patienten mit progressiver Sklerodermie
- D. Diskussion der Untersuchungsergebnisse

IV. Experimenteller Teil

V. Zusammenfassung

VI. Literaturverzeichnis

Digitized by the Internet Archive
in 2026

I. Einleitung

Die progressive Sklerodermie ist durch typische klinische Erscheinungen und einen charakteristischen Verlauf ein wohl definiertes Krankheitsbild, das auch histologisch eindeutige Bilder zeigt.

Die Ursache des Leidens ist jedoch unbekannt.

Auf der Suche nach einer Möglichkeit, Näheres über die Pathogenese zu erfahren, wurden chemische Analysen am Hautbindegewebe durchgeführt.

Zunächst wurden die in der Literatur beschriebenen chemischen Befunde zusammengestellt. Die eigenen Untersuchungen bezogen sich auf mögliche Veränderungen der Eiweiß- und Kohlenhydratzusammensetzung.

II. Allgemeiner Teil

Die Diagnose der progressiven Sklerodermie ist aus dem Zustand der Haut, dem typischen Verlauf der Krankheit und den geklagten Beschwerden in vielen Fällen ohne Schwierigkeiten zu stellen. Die Erkrankung beginnt meist mit Raynaud-artigen Erscheinungen an den Händen (Akrosklerose), manchmal auch mit Gelenksbeschwerden im Schulterbereich (arthritisch - rheumatoide Form). Bei beiden Formen der Sklerodermie ist die Gesichtshaut sehr früh verändert: Die Nase wird spitz, die Stirn wird glatt und kann nicht mehr in Falten gelegt werden; die Mundöffnung wird eingeengt; an den Lippen findet man eine radiäre Fältelung.

Die Hautveränderungen breiten sich rasch über Arme, Thorax und unter Umständen über den ganzen Körper aus.

→ Anfänglich ist die Haut teigig geschwollen, später wird sie bretthart, gespannt und zuletzt wieder weich und atrophisch.

Dieser Verlauf vom entzündlich ödematösen zum indurativen und atrophischen Stadium ist für die Sklerodermie typisch. Dabei sind die Übergänge vom einen Stadium in das andere fließend. Es können an einem Patienten ödematöse, sklerotische und atrophische Hautbezirke gleichzeitig nebeneinander bestehen.

Die Kranken fühlen sich anfangs matt, abgeschlagen, müde und appetitlos. Sie nehmen an Gewicht ab. Wenn im späteren Verlauf auch die Darmwand an dem sklerodermatischen Geschehen teilnimmt, klagen die Patienten häufig über Schluckbeschwerden, Meteorismus und Stuhlverstopfung. Als Folge der Einengung der Haut über dem Thorax und fibrotischer Veränderungen in den Lungen kann sich Atemnot

einstellen. Manchmal entstehen auch durch Fibrose des Herzmuskels cardiale Insuffizienzerscheinungen mit Dyspnoe und Zyanose.

WOLTERS⁷⁸ erkannte schon 1892, daß der gleiche Prozeß, der sich an der Haut vorfindet, auch im Skelettmuskel, Herzen, Darm, Niere und Uterus abspielt.

Zusätzlich können sich an den Gelenken, Fascien und in der Muskulatur ausgedehnte Verkalkungen entwickeln (Thibierge - Weißenbach Syndrom).

A. Klinische Laboratoriumsuntersuchungen

Bei den üblichen klinischen Laboratoriumsuntersuchungen der Körperflüssigkeiten findet man keine Veränderungen, die für die Sklerodermie beweisend wären. Die Blutkörperchensenkungsreaktion ist meist erhöht. Oft wird im Serum bei mäßiger Verminderung des Gesamteiweißgehaltes eine Vermehrung der Gammaglobuline gefunden (STAVA⁷¹). Die Reaktionen zur Bestimmung der Glukoproteide im Serum verhalten sich uncharakteristisch (BURBACH¹⁶; BRAUN-FALCO¹⁵). Der Nachweis des Rheumafaktors (MIEHLKE⁵⁰) und L.E.-Zellfaktors (BEIKERT und GEIDEL⁸) im Blut einiger Patienten zeigt, daß die progressive Sklerodermie auch immunchemisch mit anderen Systemkrankheiten des Bindegewebes wie dem Lupus erythematodes disseminatus, der Dermatomyositis und den rheumatischen Erkrankungen verwandt ist. In einzelnen Fällen wird eine Hypercalcämie beschrieben (PARHON und MILCO⁶¹). Auch die von PARHON und WERNER⁵⁹ festgestellte Erniedrigung des Magnesiumspiegels beruht auf einer Einzelbeobachtung. Die 17-Ketosteroidausscheidung der Kranken ist vermindert (ARNOLD³; LEINWAND⁸³). Wenn es im Verlauf der Sklerodermie zur Niereninsuffizienz

kommt, findet man Albuminurie und Retention harnpflichtiger Substanzen. Bei ausgedehnter Lungentfibrose ist die Sauerstoffsättigung des arteriellen Blutes vermindert (BALDWIN⁶). Als unmittelbare Folge der Muskelatrophie findet man die Kreatinausscheidung vermehrt (EPSTEIN²⁶). Eine Übersicht über all diese klinischen Laboratoriumsbefunde gibt Tabelle 1.

Darüberhinaus wurden noch von mehreren Autoren Untersuchungen des Aminosäurestoffwechsels durchgeführt: So fand CHOREMIS¹⁸ eine vermehrte Aminoacidurie.

PRICE und Mitarbeiter⁶⁶ sahen bei Tryptophanbelastungsversuchen an drei Patienten mit progressiver Sklerodermie die Ausscheidung der Tryptophanmetaboliten Kynurenin, Hydroxykynurenin und Acetylkynurenin gegenüber gesunden Versuchspersonen erhöht. Da diese Stoffwechselalteration durch EDTA-Infusionen beseitigt werden konnte, nahmen die o.g. Autoren an, daß der gestörte Tryptophanabbau durch Metallionenverschiebungen bedingt ist. In erster Linie wurde ein relativer Mangel an Magnesiumionen diskutiert (siehe auch Seite 15).

NISHIMURA und Mitarbeiter⁵⁵ entdeckten im Urin von Patienten mit diffusen Kollagenkrankheiten (insgesamt 59 Patienten, davon 9 Fälle mit progressiver Sklerodermie) 2,5 - Dihydroxyphenylbrenztraubensäure; es handelt sich hierbei um einen Metaboliten des Tyrosinstoffwechsels, der von Normalpersonen nicht ausgeschieden wird. GRUPPER und Mitarbeiter³¹ konnten diesen Befund an 7 von 9 Sklerodermiepatienten bestätigen. Spätere Untersuchungen von NISHIMURA⁵⁶ zeigten, daß auch das Tyrosin selbst sowie die Parahydroxyphenylbrenztraubensäure im Urin vermehrt sind, während die Parahydroxyphenylmilchsäureausscheidung im Normbereich liegt.

Die Normalwerte einiger Tyrosinmetaboliten im 24 - Stundenurin und ihre Änderung bei verschiedenen Krankheiten sind in Tabelle 2 zusammengestellt.

Tabelle 1

Klinische Laboratoriumsbeefunde bei progressiver Sklerodermie

	Normalwerte	progressive Sklerodermie	Autor
BSG		+	
Gesamteiweiß	6,5 - 8,0 g%	normal bis -	STAVA 1958
Albumine	55,0 - 60,0 Rel. %	normal bis -	
α_1 Globuline	5,0 - 6,0 Rel. %	normal	
α_2 Globuline	8,0 - 10,0 Rel. %	normal	
β Globuline	10,0 - 13,0 Rel. %	normal	
γ Globuline	16,0 - 20,0 Rel. %	+	STAVA 1958
Proteingebundene Hexose	119 - 125 mg%	+	BURBACH 1955
Neuraminsaure	57 - 63 mg%	normal	BRAUN- FALCO
C-Reaktives Protein	$\emptyset$		
WAALER-ROSE Test	Titer 1 : 8	normal bis +	MIEHLKE 1961
Latex Test	Titer 1 : 20	normal bis +	MIEHLKE 1961
L.E.Zellen	$\emptyset$	normal bis +	BEIKERT 1958
Natrium	136,6-141,8 mval/L	normal	
Kalium	4,1- 5,6 mval/L	normal	
Calcium	4,7- 5,2 mval/L	normal bis +	
Magnesium	1,5- 3,0 mval/L	normal bis -	PARHON u. WERNER 1949
Chlorid	97,5-107,2 mval/L	normal	
Kreatininausschei- dung	1 - 1,5 g/die	+	
Kreatinausscheidg.	0 - 0,06g/die	++	EPSTEIN 1937
17-Ketosteroid- ausscheidung	δ : 5-16 mg/die ρ : 3- 9 mg/die (im Alter v. 50 J.)	-	ARNOLD 1957 LEINWAND 1951

Tabelle 2

Ergebnisse der Bestimmungen einiger Tyrosinmetaboliten im 24 - Stundenurin von Gesunden, Leberkranken, Alkaptonurikern und Patienten mit Kollagenkrankheiten zusammengestellt nach den Untersuchungen von NISHIMURA.

	Normalwerte in mg/die	Leber- scha- den	Alkapton- urie	Kolla- genosen
Tyrosin	5-50	normal		++
p-Hydroxy- phenyl-BTS	0	+		++
p-Hydroxy- phenyllactat	+	+		normal
2,5-Dihydroxy- phenyl-BTS	0	normal		+++
Homogentisinsäure	2-7	normal	++++	normal

Aus all diesen Ergebnissen geht hervor, daß die klinisch - chemischen Laboratoriumsuntersuchungen uncharakteristische Befunde liefern, die für die progressive Sklerodermie nicht typisch sind. Sie können zum großen Teil mühelos aus den Folgeerscheinungen der Erkrankung wie Muskeldystrophie, Niereninsuffizienz und Subileus erklärt werden.

Andere Laboratoriumsergebnisse zeigen bei der Krankheitsgruppe der Kollagenosen recht charakteristische Abweichungen, sind aber nicht beweisend für das Vorliegen einer progressiven Sklerodermie.

Dies gilt insbesondere auch für die im Tyrosinstoffwechsel aufgedeckten Störungen. Eine Vielzahl der oben erwähnten Befunde wird natürlich die Diagnose erleichtern.

Um der Ursache der Krankheit mit biochemischen Methoden näher zu kommen, erschien es deshalb zweckmäßiger, Untersuchungen direkt am krankhaft veränderten Bindegewebe durchzuführen. Hierfür ist das Bindegewebe der Haut am besten geeignet, da es leicht zugänglich ist.

Im Folgenden haben wir zunächst die Ergebnisse der histologischen, elektronenmikroskopischen und röntgenspektroskopischen Untersuchungen zusammengestellt; danach wird über die aus der Literatur bekannten histochemischen und biochemischen Analyseergebnisse berichtet; schließlich werden die Resultate der eigenen Untersuchungen mitgeteilt.

B. Histologische Befunde

(GANS und STEIGLEDER²⁸; LEVER⁴⁶; DUPONT²³; WORRINGER¹⁹)

Entsprechend dem klinischen Verlauf sieht man auch histologisch am Anfang der Erkrankung entzündlich ödematöse Veränderungen, denen eine Verdickung und Verdichtung des Hautbindegewebes folgt, die schließlich in einer Atrophie enden.

1) Stadium oedematosum

Zu Beginn der Erkrankung sind die Kapillaren und Lymphgefäße der Cutis erweitert. Die Gewebsspalten sind mit Ödemflüssigkeit angefüllt, wodurch die Haut verdickt erscheint. Es entwickeln sich - besonders deutlich bei der circumscribten Form - perivaskuläre Infiltrate aus Lymphozyten, Plasmazellen und Mastzellen.

2) Stadium indurativum

In einem späteren Stadium formen sich die Kollagenfasern zu breiten, homogenen, hyalinen Bändern, die parallel zur Epidermis liegen. Die Papillen werden plump, breit und flach. Es scheint eine Neubildung des Kollagens eingesetzt zu haben, so daß die Lederhaut in eine derbe, dicht gepackte Platte umgewandelt ist. Der Eindruck der Homogenität wird durch die Verminderung der die Fasern umgebenden Fibrozyten verstärkt. Die Zahl der elastischen Fasern nimmt ab, während die retikulären Fasern unverändert erhalten bleiben. Die Gefäßlichtungen sind durch Intimaprolieration, Mediahypertrophie und Fibrose eingeengt. Ein Teil der Arteriolen obliteriert vollständig. Das Fettgewebe der Subcutis wird durch Fasern ersetzt. Die Hautanhangsgebilde werden druckatrophisch verändert; dabei sind die in der Cutis gelegenen Talgdrüsen häufig vollständig verschwunden und die Schweißdrüsen, deren Endstücke tief im subcutanen Fettgewebe liegen, vermindert.

3) Stadium atrophicum

Im atrophischen Stadium nimmt die Dicke des Coriums wieder ab. Die Verbindung zwischen Epidermis und Cutis wird flach. Papillen sind nicht mehr vorhanden. Die Epidermis selbst wird bis auf wenige Zellagen reduziert. Im Corium erscheinen feine Fibrillen, die sich mit Elasticafarbstoffen anfärben lassen (REICH⁶⁵). Diese Strukturen wurden

ursprünglich für neugebildete elastische Fasern gehalten; nach neueren Untersuchungen erscheint es jedoch fraglich, ob wirklich alle Fasern, die sich mit Elasticafarbstoffen anfärben lassen, als elastische Fasern anzusprechen sind (BRAUN-FALCO und SAALFELD¹²).

Die Homogenisierung und Quellung der Kollagenfaserbündel im Stadium indurativum ist für die Sklerodermie typisch. Sie wird umso deutlicher hervortreten, je stärker die Vernartung und Spannung der Haut am lebenden Patienten beobachtet wird. Wie histofermentative Untersuchungen ergeben haben, sind dabei die einzelnen kollagenen Fibrillen völlig unverändert und normal gebaut:

MUSSO⁵² konnte durch Trypsineinwirkung auf Gewebsschnitte von Sklerodermiehaut die Homogenisierung und Quellung des Kollagens zum Verschwinden bringen, so daß seine fibrillare Struktur wieder sichtbar wurde. Als Zeichen dafür, daß eiweißhaltige Grundsubstanz entfernt worden war, entstanden zwischen den Fasern optisch leere Räume. Gewebsslucken, die auch in den nicht mit Trypsin vorbehandelten Präparaten vorhanden waren, wurden nach Einwirkung des Enzyms größer.

C. Ergebnisse der Elektronenmikroskopie

Auch elektronenoptische Untersuchungen zeigen, daß die Kollagenfasern selbst nicht verändert sind: Die von WOLTERS entdeckte Periodik der Querstreifung ist erhalten (BAHR, SCHURMANN, CRECELIUS⁴; KAPESSER⁴⁰). Entlang den Fasern liegen amorphe oder länglich oval geformte elektronendichte Partikel. Sie sollen der mikroskopisch wahrnehmbaren Homogenisierung und Quellung des Kollagens entsprechen (REED, SEVILLE und TATTERSALE⁶⁷; SIRSAT⁶⁹).

Besonders reichlich werden diese Gebilde an der Grenze von Epidermis und Cutis angetroffen. Dort sind fast alle kollagenen Fasern mit solchen Partikeln beladen. Dieses Bild wird als typisch für die progressive Sklerodermie angesehen. Auch die elastischen Fasern sind verändert: Sie erscheinen nicht mehr glatt in den Konturen; teilweise sind Stränge vom Hauptzug gelöst und mit diesem nur durch ein Netz sehr feiner Fibrillen verbunden. Die Randzonen vieler, wenn auch nicht aller elastischen Fasern, sind porös mit wechseleiner Porenweite (BAHR⁵).

Neben der Elektronenmikroskopie steht zur Erforschung der submikroskopischen Strukturen noch die Röntgeninterferenzuntersuchung zur Verfügung.

D. Röntgeninterferenzuntersuchungen

Die Röntgeninterferenzuntersuchungen, die MACHER und BREHLER⁴⁸ an sklerodermatisch veränderter Lederhaut durchgeführt haben, ergaben ein von normaler Cutis abweichendes Bild. Bei normalen Hautproben wurde in jedem Fall, ganz gleich aus welcher Körperregion das Gewebe stammte oder welchen Alters der Proband war, das gleiche Diagramm erhalten. In Sklerodermiehaut wurde dagegen eine auffällige Schwächung der diffusen Linien bei $4,3 \text{ \AA}$ konstatiert. Hierbei handelt es sich um die Linien der Intermicellarsubstanz, also dem homogenen Material, das histologisch der interfibrillären Grundsubstanz und der intrafibrillären Kittsubstanz entspricht. Auch dieser Befund geht mit dem Grad der Homogenisierung und Hyalinisierung der Faserbündel parallel (MACHER⁴⁹).

E. Histochemische Befunde

Zur näheren Definition der hyalinen Ablagerung wurden histochemische Verfahren mit Erfolg herangezogen:

1. Die Perjodsäure - Schiff - Reaktion (P.A.S.reaction)

Das Gewebe wird mit Perjodsäure oxydiert und anschließend mit fuchsin-schwefeliger Säure (Schiff'sches Reagens) behandelt, wobei die bei der Oxydation freiwerdenden Aldehydgruppen mit dem Schiff'schen Reagens eine Rotfärbung verursachen.

In der normalen Haut findet man an der Cutis - Epidermisgrenze, um die Hautdrüsen und Haarfollikel ein lebhaft rot gefärbtes Band. Fein verteilt in den Kollagenfasern, im Cytoplasma der Retezellen und in einigen Fibrozyten wird eine ähnliche Rotfärbung gefunden.

Für die sklerodermatisch veränderte Cutis ergab dieses Farbverfahren gegenüber den Bildern der üblichen histologischen Schnittpräparate keine neuen Gesichtspunkte. Das homogene Material hat nach Perjodsäureoxydation keine Affinität zu dem Schiff'schen Reagens (STOUGHTON und WELLS⁷²; O'LEARY und Mitarbeiter⁴⁴; KOGOT⁴¹; WORRINGER⁸⁰).

2. Die Hale'sche Eisenreaktion

Der Schnitt wird mit einer Lösung von dialysiertem Eisenhydroxyd und Essigsäure bedeckt. Danach wird das an freie Säuregruppen (Carboxyl und Sulfat) gebundene Eisen mit der Berliner Blau - Reaktion nachgewiesen.

Dabei färben sich die kollagenen und retikularen Fasern sowie die Gefäßwände der Arteriolen und Venolen grünblau. In der Umgebung von Mastzellen und Fibrozyten gibt die

amorphe Grundsubstanz eine recht intensive Farbreaktion, die Gewebsmastzellen selbst sind tief schwarzblau gefärbt. Die Sklerodermiehaut ist mit dem Hale - positiven Material angereichert (KAMINSKY³⁹).

3. Die Metachromasie - Reaktion

Unter Metachromasie verstehen wir die Eigenschaft gewisser Gewebselemente, daß sie beim Kontakt mit einem Farbstoff eine von diesem abweichende Tingierung annehmen. Zur Darstellung der Metachromasie werden vornehmlich Toluidinblau, Alcianblau und Chrysylviolett benutzt.

In normaler menschlicher Haut befinden sich metachromasiegebende Substanzen hauptsächlich in den oberen Cutisschichten spinnwebsartig angeordnet. In den Gebieten der Hyalinisierung und Homogenisierung der sklerodermatischen Cutis zeigt die Toluidinblaufärbung eine deutlich vermehrte Metachromasie (SIRSAT⁶⁸; SZODORAY⁷⁴). Besonders in frischen Fällen findet man reichlich metachromasiegebende Substanzen teils fleckförmig, teils fein fibrillär um die Kapillaren herum angeordnet (ALTSCHULER ANGEORINE²; BRAUN-FALCO¹¹).

4. Kombinierte Färbeverfahren

Bei Anwendung kombinierter Färbeverfahren wird die Abhängigkeit des histochemischen Verhaltens des Coriums vom Stadium der Sklerodermie besonders deutlich.

Es findet sich im Initialstadium eine Vermehrung des intrafibrillären Materials mit deutlich positiver Eisenreaktion. Dieses Material hat eine große Affinität zu Alcianblau (CAWLEY¹⁷), ist aber PAS negativ. Hodenhyalu-

ronidase und Streptokokkenhyaluronidase vermochten es nicht abzubauen.

In einem späteren Stadium verschwinden diese Substanzen wieder und machen einer Faservermehrung Platz (BRAUN-FALCO¹⁴).

F. Chemische Befunde

Über Veränderungen der chemischen Zusammensetzung des sklerodermatischen Hautbindegewebes sind nur wenig Literaturangaben zu finden: PARHON und WERNER⁶⁰ stellten eine Wasserverarmung der erkrankten Haut fest.

HALL⁵² berichtet, daß ein zelluloseähnliches Kohlenhydrat, das auch im normalen menschlichen Bindegewebe vorkommt, im Corium von Sklerodermiekranken vermehrt ist.

Die relative Häufigkeit des Thibierge - Weißenbach Syndrom im Krankheitsbild der Sklerodermie ließen LERICHE und JUNG⁴⁵ eine Calciumüberladung der sklerodermatischen Haut vermuten. Es wurde von ihnen bei zwei Patienten, die an Sklerodermie erkrankt waren, veränderte Haut excidiert und festgestellt, daß diese mehr Calcium enthielt als das gesund erscheinende Gewebe. Die Untersuchungsergebnisse sind in Tabelle 3 zusammengefaßt:

Tabelle 3

Ergebnisse der Bestimmung des Wassergehaltes und des Calciumgehaltes in normaler und sklerodermatisch veränderter Haut zusammengestellt nach den Untersuchungsergebnissen von LERICHE und JUNG⁴⁵.

	normale Haut		sklerodermat. Haut	
	Fall 1	Fall 2	Fall 1	Fall 2
Wassergehalt in %	63,6	65,7	66,37	66,73
Calciumgehalt in % des Trockenge- wichts	0,292	0,432	0,356	0,518

Im Anschlus daran haben CORNBLEED und JUNG²⁰ die Calcium- und Phosphatbilanz von Sklerodermiekranken untersucht: Über einen Zeitraum von neun Tagen wurde bei 11 Patienten das mit der Nahrung aufgenommene, das im Blut verbleibende und das im Stuhl und Urin wieder ausgeschiedene Calcium und Phosphat gemessen. Während der Blutspiegel durch die Reglersysteme des Organismus (Nebenschilddrüse, Niere, Osteoklasten) auf normaler Höhe gehalten werden kann, ist eine deutliche Retention der beiden Ionen aus der niedrigen Ausscheidung erkennbar.

Nach Untersuchungen von KUSUNOKI⁴⁵ reichert sich das retinierte Calcium in der Haut und den von der Fibrose betroffenen Organen an.

Als Ursache der Calciumüberladung des erkrankten Bindegewebes kommen weniger allgemeine Mineralstoffwechselstörungen als rein örtliche im erkrankten Gewebe lokalisierte

Milieuveränderungen in Frage: Die Annahme ist naheliegend, daß das homogene Material, welches man bei histologischer und histochemischer Untersuchung im sklerodermatischen Gewebe angereichert findet, als Calciumfänger dient. Dieser Vorgang entspräche dem, was wir in vitro bei der Hale'schen Reaktion sehen: Das mit Eisenhydroxydlösung zusammengebrachte sklerodermatische Gewebe nimmt die Eisenionen begieriger auf als gesundes Gewebe. Möglicherweise wird auch im Organismus des Patienten das aus dem Blut stammende Calcium an das homogene interfibrilläre Material adsorbiert.

Untersuchungen von TUI, KUO und SIMUANGHO⁷⁵ haben eine positive Stickstoffbilanz ergeben; das heißt, es wird im Organismus vermehrt Stickstoff retiniert. Die Ursache dafür dürfte in der Zunahme der Skleroproteine im Hautbindegewebe und in den von der Fibrose betroffenen Organen zu suchen sein. Ein weiterer Teil der für die Kollagenneubildung benötigten Proteine wird wahrscheinlich noch aus der Muskulatur mobilisiert, denn die Skelettmuskeln der Kranken sind vermindert, schwach und atrophisch.

STOUGHTON und DENKO⁷³ haben den Einbau von radioaktivem Schwefel in die Mucopolysaccharide der Haut untersucht. Es wurde gesunden Vergleichspersonen und Sklerodermiepatienten $\text{Na}_2\text{S}^{35}\text{O}_4$ intravenös injiziert.

Dabei wird von allen Versuchspersonen der größte Teil des verabreichten Sulfats rasch wieder ausgeschieden. Ein weiterer kleinerer Anteil findet im Körperhaushalt Verwendung. Dieser wird - wie Tierversuche von DEIWATKOWSKI²⁴ ergeben haben - im Bindegewebe gespeichert und als Chondroitinsulfat gebunden.

Über der gesunden Haut nahm nach Inkorporation des radioaktiven Schwefels die Impulszahl rapide ab. Dagegen wurde über sklerodermatisch veränderten Hautpartien ein stetiger Anstieg der Radioaktivität gemessen.

Diese Versuche sprechen dafür, daß das sklerodermatische Hautbindegewebe mit Mucopolysacchariden angereichert ist, die mit Schwefelsäuregruppen Verbindungen eingehen.

III Eigene Untersuchungen

A. Material und Methoden

Wir haben das Corium von 4 Patienten mit progressiver Sklerodermie chemisch untersucht und die Ergebnisse mit denen von Hautgesunden verglichen.

Zur Ermittlung von Normalwerten wurde Leichenhaut und Operationshaut von männlichen und weiblichen Probanden verschiedenen Alters aus verschiedenen Körperregionen untersucht. Die sklerodermatisch veränderte Haut wurde in einem Falle bei der Obduction gewonnen und dreimal durch Probeexcision in Lokalanästhesie erhalten.

Es wurde zur Darstellung des Coriums die Gesamthaut vom subcutanen Fettgewebe befreit und die Epidermis mit der Warmemethode von BAUMBERGER⁷ abgetrennt. Das Gewebe wurde gewaschen und durch dreimaliges Kochen in Aceton und durch Lagerung im Wärmeschränk bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Der Stickstoffgehalt wurde mit der Mikro-Kjeldahl Methode ermittelt und eine lösliche Fraktion im alkalischen Extrakt bestimmt (als Extraktionsmittel dienten ein Veronalpuffer von pH 8,6 und eine 1/2- normale Natronlauge). Zur Bestimmung der Bindegewebszucker wurde die Cutis einer Säurehydrolyse unterzogen, danach unter Zwischenschaltung von Ionenaustauschern der Hexosamingehalt nach ELSON und MORGAN²⁵ festgestellt. Außerdem versuchten wir durch Extraktion im alkalischen Milieu, Dialyse gegen Wasser und durch Alkoholfällung die Mucopolysaccharide in relativ reinem Zustand zu erhalten. In diesen Präparaten wurde nach Passage der Ionenaustauscher zusätzlich neben der Hexosaminbestimmung noch der

Uronsäuregehalt nach DISCHE²² ermittelt.

Eine ausführliche Beschreibung der angewandten Methoden ist im experimentellen Teil gegeben.

B. Ergebnisse von normalem Gewebe

Zunächst wurden aus mehreren Einzelanalysen die Normalwerte für gesundes Gewebe ermittelt; und zwar liegen dem Stickstoffwert 30 Einzelbestimmungen zugrunde; die Normalwerte des Extraktstickstoffs beruhen auf 9 bzw. 6 Einzeluntersuchungen; der Hexosamingehalt des gesunden Coriums wurde an 19 Gewebeproben ermittelt; die Normalwerte des Hexosamin- und Uronsäureanteils der Mucopolysaccharidpräparate basieren auf 4 Untersuchungen.

In der nachfolgenden Tabelle (4) sind die Ergebnisse der von uns untersuchten normalen Hautbindegewebsproben zusammengestellt.

Tabelle 4

Ergebnisse der Bestimmungen von Gesamtstickstoff, Extraktstickstoff, Gesamthexosamin und Hexosamin- und Uronsäuregehalt der Mucopolysaccharidfraktion in normalem Hautbindegewebe.

Trockenrückstand: 34% des Gewebsfeuchtgewichtes

	Mittelwert in % d. Trockengew.	Normalbereich	Variations- breite
Gesamtstickstoff	15,35	14,54 - 16,16	
Extraktstickstoff (0,5-n. Natronlauge)	1,13		0,68-1,83
Extraktstickstoff (Veronalpuffer bei pH 8,6)	0,48		0,23-0,84
Gesamthexosamin	0,367	0,338-0,396	
Hexosamin der Mucopolysaccharidfraktion	0,053		0,03-0,87
Uronsäure der Mucopolysaccharidfraktion	0,051		0,023-0,14

Im Folgenden sollen die Analysenergebnisse einzeln besprochen werden.

1. Der Stickstoffgehalt

Tabelle 5

Ergebnisse von 30 Stickstoffbestimmungen im Trockenrückstand menschlichen Hautbindegewebes

Versuch Nr.	Alter	Geschl.	Entnahme- stelle	Unter- sucher	Einzel- werte	Abweichung vom Mittel
10	1/2	w.	Bauch	Ko	16,1	+0,75
1	11	w.	Obersch.	Sch	14,1	-1,25
20	20	m.	Oberarm	Kr	15,6	+0,25
2	20	m.	Obersch.	Sch	14,35	-1,00
11	22	w.	Bauch	Ko	16,0	+0,65
21	28	m.	Bauch	Kr	15,7	+0,35
22	40	m.	Bauch	Kr	15,2	-0,15
3	45	w.	Bauch	Sch	15,1	-0,25
4	45	w.	Bauch	Sch	15,2	-0,15
5	45	w.	Brust	Sch	15,1	-0,25
12	45	w.	Bein	Ko	15,2	-0,15
6	45	m.	Oberarm	Sch	14,5	-0,85
13	46	w.	Rücken	Ko	16,8	+1,45
7	47	m.	Nacken	Sch	14,1	-1,25
14	48	m.	Brust	Ko	16,8	+1,45
15	48	m.	Obersch.	Ko	16,1	+0,75
23	49	w.	Obersch.	Kr	15,35	0
24	50	m.	Bauch	Kr	15,3	-0,05
25	53	w.	Knie	Kr	14,8	-0,55
26	57	m.	Obersch.	Kr	14,3	-1,00
27	57	m.	Nabel	Kr	14,9	-0,45
16	57	m.	Bauch	Ko	16,6	+1,25
28	59	m.	Bauch	Kr	15,3	-0,05
29	60	m.	Bauch	Kr	15,0	-0,35
17	62	w.	Obersch.	Ko	16,6	+1,25
18	66	w.	Bauch	Ko	15,7	+0,35
19	66	w.	Brust	Ko	16,8	+1,45
8	66	m.	Obersch.	Sch	13,8	-1,55
30	69	w.	Bauch	Kr	15,65	+0,30
31	75	w.	Bauch	Kr	15,2	-0,15

Erläuterungen zu Tabelle 5

Ergebnisse von 50 Stickstoffbestimmungen im Trockenruck-
stand menschlichen Hautbindegewebes

Mittelwert: 15,35

Streuung: 0,64

Standardabweichung: $\pm 0,81$

Der Errechnung der Streuung liegt folgende Formel zugrunde:

$$v = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n}$$

$\sum$ = Summe
 x_i = Abweichung der Einzelwerte vom Mittel
 $\bar{x}$ = Mittel
 n = Anzahl der Einzelwerte

Der Ermittlung der Standardabweichung liegt folgende Formel zugrunde:

$$= \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n}}$$

Die eigenen Untersuchungen sind mit Kr gekennzeichnet, die von SCHLEED⁷⁰ und KOSROVI⁴² mit Sch bzw. Ko bezeichnet.

Der Stickstoffgehalt des menschlichen Coriums beträgt nach Entfetten und Trocknen des Gewebes 15,35 %. Durch das Entfettungsverfahren werden stickstoffhaltige Lipotide wie Cholin, Lecithine und Kephaline aus dem Gewebsverband entfernt. Der Anteil anderer niedermolekularer stickstoffhaltiger Verbindungen macht weniger als 3 % des Gesamtstickstoffs aus (MUTTIG⁵³) und kann daher vernachlässigt werden. Unter Zugrundelegung des Analysenwertes errechnet sich ein Eiweißgehalt von 96 % ($15,35 \times 6,25$), der nach dem oben gesagten einen guten Annäherungswert darstellt.

Wenn man die Einzelergebnisse nach Altersklassen, Körperregionen und Geschlecht zusammenstellt, kann man erkennen, daß die erhaltenen Werte in relativ engen Grenzen liegen, so daß man sagen kann, daß eine deutliche Abhängigkeit des Eiweißgehaltes der Haut vom Alter und Geschlecht der Probanden sowie von der Körperregion, aus der das Gewebe entnommen wurde, nicht besteht (siehe Tabelle 6).

Tabelle 6

Der Stickstoffgehalt des normalen menschlichen Coriums in % des Trockenrückstandes geordnet nach Alter und Geschlecht der Probanden sowie nach der Körperregion, aus der das Gewebe entnommen wurde.

<u>Altersklassen</u>	<u>Geschlecht</u>	<u>Körperregion</u>
0-30 15,3 ± 0,74	männl. 15,1 ± 0,70	Bauch 15,5 ± 0,38
40-49 15,4 ± 0,66	weibl. 15,58 ± 0,61	Obersch. 14,9 ± 0,90
50-59 15,2 ± 0,53		Oberarm 15,05 ± 0,55
60-75 15,5 ± 0,75		

2. Der Extraktstickstoff

Tabelle 7

Ergebnisse von 9 Bestimmungen der in einem Veronalpuffer bei pH 8,6 extrahierbaren Proteine im Trockenrückstand von menschlichem Hautbindegewebe (Untersucher: Sch.)

Versuch Nr.	Alter	Geschl.	Entnahmestelle	Einzelwerte
1	11	w.	Oberschenkel	0,555 %
2	20	m.	Oberschenkel	0,845 %
3	45	w.	Bauch	0,425 %
4	45	m.	Bauch	0,310 %
5	45	w.	Brust	0,226 %
6	45	m.	Oberarm	0,287 %
7	47	m.	Nacken	0,460 %
8	61	m.	Bauch	0,710 %
9	66	m.	Oberschenkel	0,520 %

Tabelle 8

Ergebnisse von 6 Bestimmungen des in 1/2 normaler Natronlage aus menschlichem Hautbindegewebe extrahierbaren Stickstoffs in % des Trockenrückstandes (Untersucher: Kr.)

Versuch Nr.	Alter	Geschl.	Entnahmestelle	Einzelwerte
10	20	m.	Oberarm	0,68 %
13	49	w.	Oberschenkel	1,07 %
15	53	w.	Knie	1,82 %
17	57	m.	Nabel	0,88 %
18	59	m.	Bauch	1,40 %
19	60	m.	Bauch	0,94 %

Selbstverständlich existieren im Corium mehrere Proteine mit verschiedenen Eigenschaften:

Der größte Teil davon ist fast völlig unlöslich, hart, chemisch inert und wird nur langsam umgebaut. Er besitzt Faserstruktur und dient als Stütz- und Gerüstsubstanz. Bei chemischer Analyse überwiegen die Aminosäuren Prolin, Hydroxyprolin und Glykokoll. Es handelt sich hierbei um das Eiweiß der kollagenen, retikulären und elastischen Fasern. Daneben findet man auch noch unlösliche Proteine, die von den Hautanhangsgebilden stammen; als Beispiel sei das Keratin der Haarwurzeln genannt.

Ein weiterer Teil der Proteine des Coriums läßt sich mit Lösungsmitteln leicht extrahieren, ist chemisch hoch reaktionsfähig und wird schnell synthetisiert und wieder abgebaut. Er hat als Zelleiweiß und Bestandteil der amorphen Grundsubstanz zahlreiche biologische Funktionen und erweist sich bei chemischer Analyse ebenfalls als heterogen.

Wir konnten mit 0,5 - normaler Natronlauge 7,2 % der Proteine aus dem Gewebsverband extrahieren. SCHLEEDE⁷⁰ hat mit einem Veronalpuffer 3,1 % der Proteine des Hautbindegewebes extrahiert. Die papierelektrophoretische Auftrennung derartiger Extrakte ergab nach photometrischer Auswertung eine 7 - gipfelige Kurve (siehe Abbildung 1).

Da bei keinem Extraktionsverfahren prolinfreie Proteine erhalten werden (COOPER¹⁹), kann man darauf schließen, daß auch ein Teil des Kollagens in Lösung geht. Man unterscheidet ein säurelösliches Kollagen von einem Kollagen, das mit alkalischen und neutralen Salzlösungen ex-

trahiert werden kann. Dieses alkalilösliche Kollagen liegt wahrscheinlich auch im Gewebe in gelöster Form vor. Im wachsenden, regenerierenden und tumorös entarteten Gewebe wird es früher gebildet als das unlösliche Kollagen (JACKSON³⁸; HOSODA²⁷). Radioaktiv markierte Aminosäuren werden in das alkalilösliche Kollagen schneller eingebaut als in die Fasern (HARKNESS und Mitarb.³³; JACKSON³⁸), so daß man annehmen kann, daß das alkalilösliche Kollagen ein Vorläufer der Fasern ist (OREKOVICH⁵⁸).

3. Der Hexosamingehalt

Tabelle 9

Ergebnisse von 19 Bestimmungen des Hexosamingehaltes im Trockenrückstand menschlichen Hautbindegewebes

Versuch Nr	Alter	Geschl.	Entnahmestelle	Unter-sucher	Einzelwerte	Abweichung v. Mittel
1	11	w.	Obersch.	Sch	0,430	+ 63
20	20	m.	Oberarm	Kr	0,433	+ 66
2	20	m.	Obersch.	Sch	0,260	-107
21	20	m.	Bauch	Kr	0,412	+ 45
4	45	w.	Bauch	Sch	0,240	-127
3	45	m.	Bauch	Sch	0,430	+ 63
5	45	w.	Brust	Sch	0,400	+ 33
6	45	m.	Oberarm	Sch	0,350	- 17
7	47	m.	Nacken	Sch	0,400	+ 33
23	49	m.	Obersch.	Kr	0,360	- 7
24	50	m.	Bauch	Kr	0,336	- 31
25	53	w.	Knie	Kr	0,318	- 49

Fortsetzung der Tabelle auf der nächsten Seite

Fortsetzung der Tabelle 9

Versuch Nr	Alter	Geschl.	Entnahme- stelle	Unter- sucher	Einzel- werte	Abweichung v. Mittel
26	57	m.	Obersch.	Kr	0,425	+ 58
27	57	m.	Nabel	Kr	0,360	- 7
28	59	m.	Bauch	Kr	0,473	+106
29	60	m.	Bauch	Kr	0,423	+ 56
8	61	m.	Bauch	Sch	0,400	+ 33
9	66	m.	Obersch.	Sch	0,400	+ 33
30	69	w.	Bauch	Kr	0,126	-244

Hexosamine findet man in allen Stützgeweben. Sie sind Bestandteil der kollagenen, retikularen und elastischen Fasern sowie der Mucopolysaccharide und Glukoproteide der Grundsubstanz. In der nachfolgenden Tabelle (10) sind die aus der Literatur erhaltenen Werte des Hexosamingehaltes der einzelnen Bindegewebsbausteine zusammengestellt.

Tabelle 10

Die Tabelle gibt den Hexosamingehalt der einzelnen Bindegewebsbausteine an. Außerdem ist der prozentuale Anteil der Bindegewebsbestandteile am Trockengewicht des Coriums nach Angaben der Literatur wiedergegeben.

	Hexosamingehalt in % d. Trocken- gew.	Anteil am Trocken- gew. d. Coriums in Prozent
Kollagen	0,005	78,0
Retikulin	0,007	
Elastin	0,01	4,0
Glukoproteide		6,8
Mucopolysaccharide	50,0	0,05

Die Tabelle (10) wurde nach den Untersuchungsergebnissen von PEARSE⁶³, WEINSTEIN⁷⁷, GLEGG³⁰, MOSS⁵¹, PARTRIDGE⁶² und WINDRUM⁸¹ zusammengestellt.

Daraus erkennt man, daß der größte Teil der Hexosamine des Bindegewebes als Baustein der Mucopolysaccharide und Glukoproteide der interfibrillären Grundsubstanz angehört.

Der von uns ermittelte Hexosaminwert liegt mit 0,367 % des Cutistrockengewichtes innerhalb der von HORMANN³⁶ angegebenen physiologischen Schwankungsbreite von 0,25 bis 0,50 % des Gewebstrockengewichtes.

4. Die Mucopolysaccharide

Tabelle 11

Ergebnisse von 4 Einzelbestimmungen des Hexosamin- und Uronsäuregehaltes in einer Mucopolysaccharidrohfraktion aus menschlichem Hautbindegewebe (die Werte sind in Gramm angegeben und auf 100 g getrocknetes Gewebe bezogen.

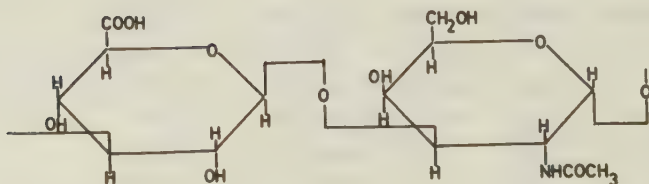
Untersucher: Kz)

Versuch Nr	Alter	Geschl.	Entnahme- stelle	Hexosamin	Uronsäure
23	49	m.	Obersch.	0,042	0,023
25	53	w.	Knie	0,087	0,101
28	59	m.	Bauch	0,052	-
29	60	m.	Bauch	0,030	0,029

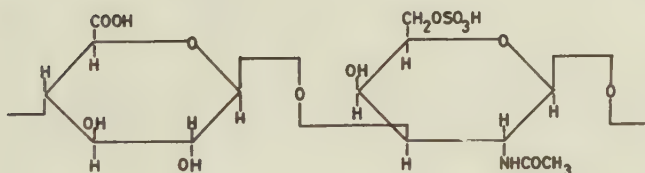
Mucopolysaccharide sind makromolekulare, fadenförmig angeordnete Verbindungen, die aus Hexosamin, Uronsäure und teilweise auch aus Schwefelsäure und Essigsäure aufgebaut sind. Sie unterscheiden sich voneinander in ihren Einzelbausteinen, in der Spaltbarkeit durch Enzyme (Hyaluronidasen), der Wanderungsgeschwindigkeit im elektrischen Feld, im Molekulargewicht, in der optischen Aktivität, in der unterschiedlichen Löslichkeit ihrer Calciumsalze und im Vorkommen in den verschiedenen Geweben.

Das Corium enthält die Mucopolysaccharide Hyaluronsäure und die Chondroitinschwefelsäuren A, B und C.

Nach WEISSMAN, MEYER und SAMSON⁷⁶ hat die Hyaluronsäure das Disaccharid "Glukuronido-acetyl-Glukosamin" als Struktureinheit:

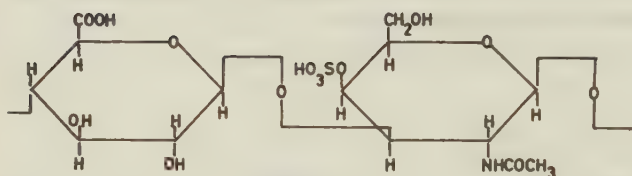


Chondroitinsulfat A und C bestehen aus Chondrosineinheiten, deren Galaktosaminkomponente mit Schwefelsäure verestert ist. In fast allen Geweben überwiegt das Chondroitinsulfat A. Es hat in neutraler Lösung eine optische Aktivität von $D = -30$ bis -32 , während das Chondroitinsulfat C die Ebene des polarisierten Lichtes um -16 bis -32 dreht. DAVIDSON und MEYER²¹ geben die folgende Strukturformel an:



In einer neueren Arbeit haben HOFMAN, LINKER und MEYER⁸⁵ gefunden, das Chondroitinsulfat C am 6.ten Kohlenstoffatom des Galaktosamins mit Schwefelsäure verestert ist,

Chondroitinsulfat A dagegen am C-Atom 4.



Vom Chondroitinsulfat B, das den Hauptanteil der Mucopolysaccharide der Haut ausmacht, ist die Verknüpfung der Iduronsäure mit dem Acetyl-galaktosamin-4-sulfat noch nicht eindeutig geklärt (HOFMANN, LINKER und MEYER⁵⁵). Wahrscheinlich ist die von AIZAVA¹ beschriebene Dermotinschwefelsäure mit dem Chondroitinsulfat B identisch.

Zur Isolierung der Mucopolysaccharide des Hautbindegewebes extrahierten wir die Gewebeproben mit 0,5 - normaler Natronlauge. Dabei gehen Proteine und saure Mucopolysaccharide in Lösung. Bei der nachfolgenden Dialyse gegen Wasser werden diejenigen Substanzen, die sich nicht im Verband von Makromolekülen befinden, aus dem System

eliminiert. Einige Eiweiße fallen beim Abwandern der Ionen aus; dieses ausgeflockte Protein wurde abfiltriert. Durch Alkoholfällung wurde ein weißes Pulver erhalten, das Hexosamin und Uronsäure in etwa gleichem Molenverhältnis enthielt.

Auf diese Weise konnten wir im menschlichen Corium einen Mucopolysaccharidgehalt von ca. 0,1% ermitteln.

C. Kasuistik der Patienten mit progressiver Sklerodermie

Patient 1: Elisabeth E. (Aufn.Nr. 5345)

Auszug aus dem Krankenblatt:

Die 54-jährige Patientin klagt über Juckreiz am Hals, an den Armen und auf der Brust. Die Haut des Schultergürtels spanne, das Heben der Arme falle ihr schwer. Die Bewegungen im Schultergelenk seien kraftlos und schmerzhaft. Die Gesichtshaut sei starr geworden, so daß sie die Stirn nicht mehr in Falten legen könne. Sie bemerke, wie ihr Brustkorb langsam aber stetig von der erkrankten Haut eingeengt wurde, so daß sie befürchten müsse, eines Tages nicht mehr atmen zu können. Beim Stricken fühle sie eine zunehmende Steifigkeit ihrer Fingergelenke. Das Halten einer Tasse, das Knöpfen und andere diffizile Fingerbewegungen fielen ihr schwer. Wenn sie in kaltes Wasser greife, würden ihre Hände vollständig steif und seien wie abgestorben.

Die Untersuchung ergab einen blaß lividen Farbton der Haut des Gesichtes, der seitlichen Halsregion, der oberen Rückenpartie, des Schultergürtels und des gesamten ventralen Rumpfes. In diesem Bereich erschien das Integument

von wächsender Konsistenz, das Abheben von Hautfalten war nicht möglich. Im rechten unteren Thoraxabschnitt fanden sich neben Pigmentverschiebungen zahlreiche Teleangiectasien. Die Finger fühlten sich kalt an, der Nagelfalz erschien gerötet.

Elektromyographische Untersuchungen und die Kreatininbestimmung im Blut und Urin brachten keine Abweichungen vom Normalen. Die Ösophaguskymographie zeigte eine Wandstarre; Röntgenuntersuchungen des Armskelettes ergaben eine mäßige Kalksalzverarmung. Die histologische Untersuchung eines über dem rechten Deltamuskel entnommenen Gewebstückchens (Präp.Nr. 2053/59) zeigte ausgedehnte Homogenisierungen des gesamten kollagenen Bindegewebes mit fast völligem Schwund der Hautanhangsgebilde bis auf Reste der Schweißdrüsen. Die Elastica war relativ gut erhalten. Im Muskel fanden sich keinerlei pathologische Veränderungen.

Chemische Untersuchung:

	%d.Trockengewichts	Normalwerte
Gesamtstickstoff	14,80	15,35
Extraktstickstoff (0,5-n.Natronlauge)	0,69	1,13
Gesamthexosamin	0,452	0,367
Hexosamin der Mucopolysaccharidfraktion	0,074	0,053
Uronsäure der Mucopolysaccharidfraktion	0,011	0,051

Es handelt sich um eine 54-jährige Patientin mit progressiver Sklerodermie im I - II Stadium. Die befallenen Hautpartien wiesen neben einer vermehrten Spannung und alaba-

sterartigen Härte noch geringgradige entzündliche Erscheinungen auf. Bei der chemischen Untersuchung einer Hautbindegewebsprobe, die über dem rechten Deltamuskel entnommen worden war, fanden wir eine mäßige Verminderung der löslichen Proteine. Der Hexosamingehalt war erhöht. Die Mucopolysaccharidfraktion war geringgradig vermehrt. Das molare Verhältnis Hexosamin zu Uronsäure war zugunsten des Hexosamins verschoben.

Patient 2: Anton Ch. (Aufn.Nr. '847)

Auszug aus dem Krankenblatt:

Der 59-jährige Patient, dessen Vorgeschichte außer einer Arsenvergiftung im 26.ten Lebensjahr und einem "Ekzem" des Nackens und der Ohren keine Besonderheiten bietet, bemerkte im Alter von 58 Jahren, daß seine Haut zunehmend steifer wurde. Es seien zuerst die Schultern, dann die Gegend um das Schlüsselbein, die Arme und zuletzt der Nacken und das Gesicht betroffen gewesen. Das Sprechen sei ihm schwer gefallen, später hätten sich auch Schluckstörungen eingestellt.

Bei der Aufnahmeuntersuchung fiel eine blasse, marmorartige Verhärtung der Haut an den medialen Wangenpartien, seitlich am Hals, im Nacken, an beiden Unterarmen, den Händen und an den Beugeseiten der Unterschenkel auf. Die Haut der Finger war glatt gespannt. Die Beweglichkeit der Fingergelenke war deutlich herabgesetzt. Hände und Füße fühlten sich kalt an. Außer einer radiären Fältelung im Bereich des Mundes waren im Gesicht mehrere spider-artige Teleangiectasien zu erkennen.

Röntgenuntersuchungen der Thoraxorgane zeigten im rechten Mittel- und Unterfeld feine netzförmige und streifige Einlagerungen. Das Ekg zeigte in aVF geringe Erregungsrückbildungsstörungen. Am Ösophagus waren bei röntgenologischer Untersuchung nur wenig peristaltische Umformungen zu erkennen. Ösophagoskopisch erschien die Schleimhaut blaß. Der Magensaft war subazid. Der Radiojodtest mit J¹³¹ ergab nach 2 Stunden eine Jodaufnahme von 4%, nach 24 Stunden von 9%; dies entspricht einer verminderten Stoffwechseltätigkeit der Schilddrüse. Der Latextest war negativ, der Antistreptolysintiter war mit 30 A.E. normal. Alle Seroreaktionen auf Lues fielen negativ aus. Die Konzentrationen der Serumminerale (Ca: 4,4; Na: 135,1; K: 4,15 mval/L) waren im Normbereich.

Chemische Untersuchung des Hautbindegewebes:

	%d.Trockengew.	Normalwerte
Gesamtstickstoff	15,55	15,35
Gesamthexosamin	0,530	0,367

Bei dem 59-jährigen Patienten, der das klinische Bild einer progressiven Sklerodermie im II. Stadium bot, konnte in einer Hautbindegewebsprobe aus dem Infraklavikularbereich eine deutliche Hexosaminvermehrung festgestellt werden.

Patient 3: Johanna B.

Auszug aus dem Krankenblatt:

Die 47-jährige Patientin erkrankte 1945 auf der Flucht mit Angstzuständen, Schreikrämpfen und bemerkte Kribbeln ihrer Hände. Seit dieser Zeit seien ihre Finger beim Arbeiten im

kalten Wasser taub geworden, angeschwollen und hätten geschmerzt.

Zwei Jahre später sei festgestellt worden, daß sie an progressiver Sklerodermie erkrankt sei. 1948 sei sie klinisch stationär behandelt worden. Die Epithelkörperchenexstirpation, die wegen einer Vermehrung des Blutcalciumgehaltes durchgeführt wurde, hätte zu einer Verschlimmerung des Leidens geführt. Ihre Haut sei dick geworden, sie habe ein Spannungsgefühl im Gesicht bemerkt, ihre Nase sei spitz geworden, die Mundöffnung habe sich verkleinert. Sie hätte nicht mehr pfeifen können. Die Streckfähigkeit ihrer Fingergelenke sei verloren gegangen. Ein Jahr später hätte eine Eiterung am rechten Ellenbogen so überhand genommen, daß der Arm abgesetzt werden mußte. In der Folgezeit habe sie stark an Gewicht abgenommen, ihr Gesicht sei mit der stetigen Verschlimmerung des Leidens derart entstellt gewesen, daß sie alte Bekannte, denen sie gelegentlich des Schlesiertreffens wieder begegnete, nicht mehr erkannt hätten. Die Hände seien in Krallenstellung versteift. Auf den Höckern der Mittelgelenke seien Ulzerationen entstanden. Ihre Muskulatur sei immer schwächer geworden und die Beweglichkeit ihrer Gelenke sei schmerzhaft eingeschränkt gewesen. Wegen Stuhlverstopfung und Erbrechen wurde sie in die Medizinische Klinik eingewiesen und verstarb am 21. Januar 1960 an den Folgen eines Ileus.

Chemische Untersuchung des Hautbindegewebes:

Bei der Obduction wurde aus einem atrophischen Hautbezirk am linken Ellenbogen Gewebe entnommen und chemisch untersucht:

	%d. Trockengew.	Normalwerte
Gesamtstickstoff	14,85	15,35
Extraktstickstoff (0,5-n.Natronlauge)	0,93	1,13
Gesamthexosamin	0,467	0,367
Hexosamin der Mucopoly- saccharidfraktion	0,066	0,053
Uronsäure der Mucopoly- saccharidfraktion	0,040	0,051

Die chemische Untersuchung des Coriums einer Patientin, die im Alter von 47 Jahren an progressiver Sklerodermie verstarb, ergab eine Vermehrung der Hexosamine. Bei dem untersuchten Gewebe handelt es sich um atrophische Cutis im III. Stadium der Sklerodermie.

Patient 4

Eine weitere Gewebsprobe von einem Patienten mit progressiver Sklerodermie, von dem uns klinische Daten leider nicht bekannt sind, hat SCHLEEDE⁷⁰ untersucht:

Nach Inkubation des Gewebes in einem Veronalpuffer bei pH 8,6 wurde ein löslicher und ein unlöslicher Anteil voneinander abgetrennt. In beiden Fraktionen wurde der Proteingehalt und der Hexosamingehalt getrennt ermittelt (Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl, Hexosaminbestimmung nach BOAS). Zusätzlich wurde der lösliche Anteil papier-elektrophoretisch aufgetrennt (Filterpapier: Whatman Nr. 1;

Pufferlösung: Veronal bei pH 8,6; Stromdurchgang: 2 mA, 145 - 160 V, Entwicklung: Amidoschwarz).

Die Ergebnisse sind in der nachfolgenden Tabelle wiedergegeben:

	%d. Trockengew.	Normalwerte
Gesamtstickstoff	15,3	15,35
Extraktstickstoff (Veronal bei pH 8,6)	0,34	0,48
Gesamthexosamin	0,420	0,367

In der untersuchten Hautbindegewebsprobe eines Patienten mit progressiver Sklerodermie findet man eine Verminderung des löslichen Anteils, eine abnorme Zusammensetzung der löslichen Proteine sowie eine Vermehrung des Hexosamin-gehaltes.

D. Diskussion der Untersuchungsergebnisse

Bei der Frage nach der Pathogenese der progressiven Sklerodermie stehen die Ergebnisse der histochemischen, elektro-nenoptischen und röntgenspektroskopischen Untersuchungen am krankhaft veränderten Bindegewebe im Vordergrund.

Diese Befunde dienten uns als Grundlage, um ein Programm für chemische Untersuchungen aufzustellen. Dabei legten wir als Bezugsgröße für unsere Analysen das Gewicht des getrockneten und entfetteten Gewebes fest, da dieses, wie Untersuchungen von KOSROVI⁴² ergeben haben, nur geringen Schwankungen unterworfen ist. Darin wurde versucht, durch Bestimmung des Gesamtstickstoffs und des extrahierbaren Stickstoffs, den Anteil der Faserproteine gegenüber dem Zelleiweiß und den Eiweißkörpern der Grundsubstanz des

Bindegewebes zu ermitteln.

Um eventuelle Verschiebungen in der Zusammensetzung der löslichen Proteinfraction zu erkennen, wurde ein Elektrophoresediagramm angefertigt.

Die Hexosaminbestimmung im Gesamtgewebe sollte als Indikator für die Menge der Mucopolysaccharide und Glukoproteide der Grundsubstanz dienen.

Die Uronsäurebestimmung im erkrankten Gewebe hätte uns rasch über den Mucopolysaccharidbestand informiert, da nur die Mucopolysaccharide diesen Zucker enthalten. Die Uronsäurebestimmung direkt im Gewebe war uns jedoch nicht geglückt, so daß wir erst eine Mucopolysaccharidrohfraction gewinnen mußten. In diesen Präparaten wurde zusätzlich noch eine Hexosaminbestimmung durchgeführt. Damit war durch Errechnung des Molenverhältnisses Hexosamin zu Uronsäure eine Möglichkeit gegeben, über qualitative Veränderungen der Mucopolysaccharide eine Aussage zu machen.

Im sklerodermatischen Hautbindegewebe war der Gesamtstickstoffgehalt bei allen untersuchten Patienten normal.

Der Extraktstickstoff wurde in drei Fällen untersucht: Er war vermindert bei Patient 1 und 4 und normal bei Patient 3.

Ein Elektrophoresediagramm der löslichen Proteine ergab eine relative Vermehrung der Eiweiße vom Globulintyp.

Der auffälligste chemische Befund war eine Hexosaminvermehrung im kranken Gewebe. Auch die Hexosaminkonzentra-

tionen der Mucopolysaccharidpräparate war gegenüber dem Durchschnittswert aus gesunder Lederhaut erhöht. Der Uronsäureanteil der Mucopolysaccharide war bei Patient 1 deutlich vermindert und bei Patient 3 normal.

Das Molenverhältnis Hexosamin zu Uronsäure war in beiden untersuchten Fällen zugunsten des Hexosamins verschoben, am deutlichsten bei Patient 1.

Aus der nachfolgenden Tabelle kann man erkennen, in welchem Verhältnis die untersuchten Bindegewebsbausteine der sklerodermatischen Haut gegenüber gesunder Haut verändert sind. Dazu wurden die entsprechenden normalen Werte gleich 100 gesetzt. Zusätzlich wurden darin noch einige klinische Daten, das Alter und Geschlecht der Patienten sowie die Entnahmestelle des Gewebes aufgeführt.

Tabelle 12

Klinische Daten und Ergebnisse der chemischen Analysen des Coriums bei 4 Patienten mit progressiver Sklerodermie.

Stadium der Erkrankung	I	II	III	x
Krankheitsdauer in Jahren	1/4	1	15	x
Alter der Patienten	54	59	47	x
Geschlecht	w.	m.	w.	x
Entnahmestelle	Arm	Brust	Arm	x
Gesamtstickstoff	97	101	98	100
Extraktstickstoff	61	-	82	65
Gesamthexosamin	123	145	129	114
Hexosamin der Mucopolysaccharidfraktion	142	-	106	-
Uronsäure der Mucopolysaccharidfraktion	22	-	80	-

Die Ergebnisse der chemischen Analysen sind in Prozentzahlen zum Normalwert angegeben. Das arithmetische Mittel der aus normalem Hautbindegewebe erhaltenen Konzentrationen ist dabei gleich 100 gesetzt.

x) Bei dem von SCHLEEDE⁷⁰ untersuchten Fall sind uns klinische Daten nicht bekannt.

Wir müssen davon ausgehen, daß die Sklerodermie verschiedene Stadien durchläuft, die sich klinisch, histologisch und wahrscheinlich auch chemisch voneinander unterscheiden.

Die initialen Veränderungen des Bindegewebes sind durch den histologischen Befund der Homogenisierung und Hyalinisierung der Kollagenfaserbündel gekennzeichnet (GANS²⁸, LEVER⁴⁶, DUPONT²³, WORRINGER⁸⁰). Wie elektronenmikroskopische Untersuchungen ergeben haben, sind dabei die kollagenen Fibrillen normal gebaut (BAHR⁵, REED⁶⁶, SIRSAT⁶⁸, KAPESSER⁴⁰). Daher muß man annehmen, daß bestimmte Stoffe an das Kollagen adsorbiert sind. Histochemische Befunde deuten auf eine Anreicherung von sauren Mucopolysacchariden hin (KAMINSKY³⁹, ALTSCHULER², CAWLY¹⁷, BRAUN-FALCO^{13,14}). Für eine Vermehrung derartiger Substanzen sprechen auch die Ergebnisse der Stoffwechseluntersuchungen mit radioaktivem Sulfat (STOUGHTON⁷²), die therapeutischen Erfolge der Hyaluronidaseiontophorese und Hyaluronidaseinfiltration (POPKIN^{64,65}) sowie die Resultate unserer chemischen Untersuchungen (Patient 1).

Wahrscheinlich ist das sklerodermatische Bindegewebe auch noch aus anderen Mucopolysacchariden aufgebaut als das normale. Denn die Uronsäurekonzentration der Mucopoly-

saccharidfraktion ist vermindert; das angereicherte Mucopolysaccharid erweist sich als resistent gegenüber Hoden- und Streptokokkenhyaluronidase (BRAUN-FALCO¹⁴). Andererseits scheint das sklerodermatische Gewebe vermehrt austauschbare Schwefelsäuregruppen zu besitzen.

Daraus könnte die Vermutung hergeleitet werden, daß möglicherweise das Keratosulfat oder das Chondroitinsulfat B den überwiegenden Anteil der Mucopolysaccharide des sklerodermatischen Hautbindegewebes ausmachen.

Aus der nachfolgenden Tabelle kann man erkennen, daß das Molenverhältnis Hexosamin zu Uronsäure, wie man es mit der ELSON-MORGAN²⁵-Methode und der Carbazolreaktion nach DISCHE²² ermitteln kann, so verschoben ist, daß die Anreicherung eines uronsäurefreien oder uronsäurearmen Mucopolysaccharids im sklerodermatischen Hautbindegewebe wahrscheinlich wird.

Tabelle 13

Tabelle 13 gibt das Molenverhältnis Hexosamin zu Uronsäure, wie es mit der ELSON-MORGAN-Methode und der Carbazolreaktion nach DISCHE ermittelt wurde, in den Mucopolysacchariden, im normalen Hautbindegewebe und im sklerodermatischen Hautbindegewebe wieder. Für die einzelnen Mucopolysaccharide wurde noch die molare Relation Hexosamin zu Sulfat und die Empfindlichkeit gegen verschiedene Hyaluronidasen angegeben.

Fortsetzung der Tabelle 13

	Molenverhältnis Hexosamin: Uronsäure	Molenverhältnis Hexosamin: Sulfat	Angreifbar- keit mit Hya- luronidasen Hoden Bakte- rien	
Hyaluronsäure	1 : 1	1 : 0	+	+
Chondroitinsul- fat A	1 : 1	1 : 1	+	-
Chondroitinsul- fat B	1 : 0,5 ^x	1 : 1	-	-
Chondroitinsul- fat C	1 : 1	1 : 1	+	-
Keratosulfat	1 : 0	1 : 1	-	-
normales Haut- bindegewebe	1 : 0,83			
sklerodermat. Hautbindegew. Fall 1	1 : 0,15			
sklerodermat. Hautbindegew. Fall 3	1 : 0,54			

x) Die Iduronsäure des Chondroitinsulfat B gibt bei der Carbazolreaktion nur die Hälfte der Extinktion wie Glukuronsäure.

In den späteren Stadien der Erkrankung findet man histologisch eine Vermehrung und Verdichtung der Fasern. Röntgeninterferenzuntersuchungen ergaben eine Verminderung des intermicellären Materials (MACHER^{48,49}). Bei chemischen Analysen erscheinen die löslichen Proteine vermindert. Dabei sind die Mucopolysaccharide histochemisch nicht mehr vermehrt nachweisbar (BRAUN-FALCO¹⁴). Die Hexosaminvermehrung besteht jedoch auch im II und III Stadium der Krankheit.

Aus Modellversuchen von NAGEOTTE⁵⁴ wissen wir, daß man aus den löslichen Vorstufen des Kollagens durch Zusatz von Mucopolysaccharidlösungen ausgereifte kollagene Fasern gewinnen kann. Ein alkalilösliches Prokollagen liegt wahrscheinlich auch im Gewebe in gelöster Form vor.

Bei unseren Untersuchungen am sklerodermatischen Bindegewebe erschienen die in Alkali löslichen Proteine vermindert; der Gesamteiweißgehalt war jedoch normal hoch.

Daner scheint die Annahme berechtigt, daß durch den Einfluß der krankhaft vermehrten Mucopolysaccharide aus dem alkalilöslichen Prokollagen neue Fasern entstanden sind.

Mit der Zeit werden die bereits vorgeschädigten Gefäße durch das straffe Fasergeflecht des sklerodermatischen Bindegewebes komprimiert, so daß das Gewebe atrophisch wird. Dadurch wird die Haut wieder weicher. Im histologischen Präparat (REICH⁶⁷) und bei chemischer Untersuchung sind die für die Sklerodermie typischen Veränderungen weniger deutlich.

IV. Experimenteller Teil

1. Gewinnung des Hautbindegewebes (Dermis, Cutis, Lederhaut)

Nachdem das subcutane Fettgewebe abpräpariert worden war, wurde die Haut mit der Coriumseite über einem Blech gestreckt und auf 40°C erwärmt. Dabei löst sich die Verbindung zwischen Epidermis und Cutis: Die Oberhaut läßt sich dann leicht abziehen (BAUMBERGER⁷).

2. Gewinnung des Trockenrückstandes

Das so gewonnene Hautbindegewebe wurde gewogen, dann zerkleinert. Das Wasser und noch anhaftende Fett wurden durch dreimaliges Kochen in 50 ml Aceton entfernt und der Rückstand bis zur Gewichtskonstanz im Wärmeschrank bei 60°C getrocknet. Die Differenz zwischen Feuchtgewicht und Trockengewicht entspricht dem Wasser- und Fettgehalt.

3. Die Stickstoffbestimmung

In einem Teil der getrockneten und entfetteten Cutis (ca. 5 mg) wurde nach der Mikrokjeldahlmethode der Stickstoff bestimmt.

4. Bestimmung der Bindegewebszucker

Die Bestimmung des Hexosamin- und Uronsäuregehaltes des Gewebes erfordert eine hydrolytische Spaltung, eine Trennung an Ionenaustauschern und eine photometrische Messung der Farbintensitäten der Reaktionen nach ELSON-MORGAN und DISCHE.

a) Die Hydrolyse

Die für die Freisetzung des Hexosamins angegebenen starken Hydrolysebedingungen (Inkubation des Gewebes in 4- normaler Salzsäure bei 100°C 15 Stunden lang, BOAS⁹) konnten durch eine mildere Hydrolyse ersetzt werden, die dann gleiche Werte liefert, wenn nur wenig Gewebe im Verhältnis zur Säuremenge eingesetzt wird. Dabei ist das Pufferungsvermögen der Gewebsproteine relativ gering. Wir hydrolysierten jeweils 100 mg trockene Cutis mit 7,5 ml

normaler Salzsäure bei 100°C 10 Stunden lang. Eine stärkere Hydrolyse hätte zuviel Uronsäure zerstört.

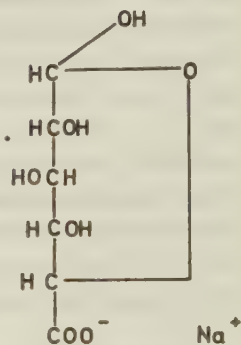
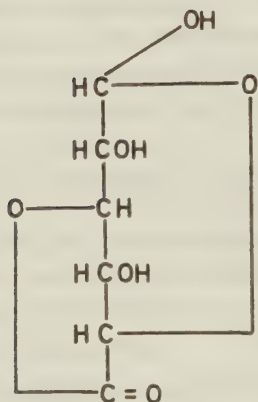
b) Gewinnung einer Mucopolysaccharidrohfraktion

Da bei der Hydrolyse saure, gefärbte Huminstoffe entstehen, welche die Uronsäurebestimmung stören und selbst bei Verwendung von Ionenaustauschern nicht eliminiert werden konnten, wurde zusätzlich das Alkoholpräzipitat eines alkalischen Extraktes untersucht: 1 - 3 g trockene Cutis oder 3 - 9 g feuchte Cutis wurden in 50 ml einer 0,5 - normalen Natronlauge drei Tage lang bei 0°C inkubiert. Dabei werden Mucopolysaccharide und Proteine aus dem Gewebsverband herausgelöst. Das Gemisch wurde durch einen Faltenfilter filtriert. In einem Teil des Filtrates wurde die Stickstoffbestimmung durchgeführt: Extraktstickstoff.

Der andere Teil wurde, um niedermolekulare Substanzen zu entfernen, 24 Stunden lang in einem Cellophanschlauch gegen Leitungswasser dialysiert. Nach der Dialyse bildet sich ein Niederschlag von ausgefallenen Proteinen, der durch erneutes Filtrieren entfernt wurde. Nach Zugabe des doppelten Volumen Äthanol entsteht erst eine weißliche Trübung, dann eine grobe Auflockung, die sich nach 24 Stunden absedimentiert. Dieser Niederschlag wurde abzentrifugiert und im Vakuum von Feuchtigkeit befreit. So wurde ein weißes Pulver erhalten, (Mucopolysaccharidrohfraktion), das in 7,5 ml 1-n. Salzsäure hydrolysiert wurde.

Die stark sauren Hydrolysate des Gesamtgewebes wie auch des Alkoholpräzipitates des Extraktes wurden mit 4- normaler Natronlauge auf pH 7,5 eingestellt. Dabei ist die Verwendung eines pH-Meters unerlässlich, da Farbindikatoren

die photometrische Bestimmung stören. Die Mischung wurde einen Tag stehen gelassen, um die als Laktone vorliegende Uronsäure zu spalten:



Natriumsalz der Glukuronsäure

Glukuronsäurelaktone

Um aus den Proben weitere Substanzen zu entfernen, welche die Bestimmung stören könnten, wurde die Uronsäure mit dem Anionenaustauscher Amberlite IR₄B (freie Aminogruppen) und das Hexosamin mit dem Kationenaustauscher Dowex 50 - 100 - 200 mesh- (freie Sulfonsäuregruppen) aus dem Hydrolysat abgetrennt.

Isolierung der Uronsäure

20 ml der Aufschwemmung von Amberlite IR₄B wurden mehrmals mit destilliertem Wasser gewaschen und in eine Säule gefüllt. Nachdem das Harz durch Behandlung mit Wasser auf

einen pH-Wert zwischen 5 und 7 eingestellt war, konnte die zu untersuchende Flüssigkeit aufgegeben werden. Bei der Adsorption wurde die Tropfenfolge so eingestellt, daß die zu untersuchende Flüssigkeit in einer Zeit von 90 Minuten die Säule passierte. Dann wurde mit Wasser nachgespült, um alle basischen und neutralen Substanzen aus dem System zu entfernen. Dieser Säulendurchfluß enthält auch das Hexosamin, das in einem späteren Arbeitsgang quantitativ bestimmt wurde. Die an dem Harz haftende Uronsäure wurde mit ca. 20 ml einer 3%-igen Ammoniaklösung in einer Zeit von mindestens drei Stunden eluiert. Wie Vorversuche ergeben haben, wird bei dieser Prozedur die gesamte Uronsäure an den Ionenaustauscher adsorbiert; im ammoniakalischen Eluat werden im Durchschnitt 91% der aufgegebenen Uronsäure wieder gefunden. Nach Waschen mit destilliertem Wasser ist die Säule wieder verwendungsfähig. Die nachfolgende Tabelle gibt die im Eluat gemessene Uronsäuremenge in Abhängigkeit von der aufgegebenen Uronsäuremenge wieder.

Tabelle 14

Ergebnisse der Vorversuche mit dem Ionenaustauscher
Amberlite I R₄ B

Aufgegebene Uronsäure in Gamma	Im Eluat erhaltene Uronsäure in Gamma	Prozentuale Abweichung
500	502	0
1000	903	- 9
1500	1350	-10
2000	1803	-10
2500	2250	-10
3000	2712	-10
3500	3100	-11
4000	3707	- 7

Fortsetzung der Tabelle 14

Aufgegebene Uronsäure in Gamma	Im Eluat erhaltene Uronsäure in Gamma	Prozentuale Abweichung
4500	4100	- 9
5000	4765	- 5
5500	4730	-14

Bestimmung der Uronsäure (DISCHE²²)

Prinzip: Werden Zucker mit konzentrierten Mineralsäuren (Schwefelsäure, Salzsäure) behandelt, so liefern sie Mischungen aus Produkten, die mit verschiedenen organischen Substanzen (Indol, Diphenylamin, Carbazol und SH-Verbindungen) Farbreaktionen ergeben.

Ausführung: 1 ml des Eluats, das 5 - 100 Gamma Uronsäure enthält, wird unter Kühlung mit 6 ml konzentrierter Schwefelsäure gemischt und für 20 Minuten in einem kochenden Wasserbad erhitzt. Die Mischung wird auf Raumtemperatur abgekühlt, dann werden 0,2 ml einer 0,1 %-igen alkoholischen Lösung reinen Carbazols unter Schütteln hinzugegeben. Nach einigen Minuten erscheint eine rosa Farbe. Diese Farbe ist gerade nachweisbar, wenn die Lösung 5 Gamma Uronsäure enthält. Das Maximum der Adsorption dieser Farbe liegt bei 530 m μ . Für 10 Gamma Glukuronsäure oder 9,1 Gamma Glukuronsäurelaktone beträgt die Extinktion bei einer Schichtdicke von 10 mm 0,063. Die Eichkurve ist eine Gerade.

Die Farbentwicklung ändert sich nicht, wenn die Uronsäure anstatt in Wasser in 3 %-igem Ammoniak gelöst war. Jedoch wird durch Kochen in Salzsäure ein Teil der Uronsäure durch Dekarboxylierung zerstört (LEVEVRE und TOLLENS⁴⁷). Dazu

ist zu bemerken, daß die einzelnen Isomeren unterschiedlich beständig sind: Laktonbildende Uronsäuren wie Glukuronsäure und Mannuronsäure werden weniger zerstört als Galakturonsäure, welche nicht laktonisiert vorliegt (FISCHER und DÖRFEL²⁷). Wir fanden bei den Vorversuchen, daß nach 10 Stunden langem Kochen in 4- normaler Salzsäure 37%, in normaler Salzsäure - entsprechend einer milden Hydrolyse - 3 - 8% der Glukuronsäure zerstört werden.

Außerdem wird die DISCHE-Reaktion durch Huminstoffe, die bei der Hydrolyse entstehen, beeinträchtigt. Deshalb konnten nur die Uronsäuremengen, die in den Mucopolysaccharid-rohfractionen gewonnen wurden, verwertet werden.

Isolierung der Hexosamine

Durchfluß und Waschwasser aus der Amberlite-Säule wurden über den Kationenaustauscher DOWEX 50 gegeben: 5 - 30 ml der zu prüfenden Flüssigkeit liefen in mindestens 90 Minuten durch die mit ca 10 ml Harz gefüllte Säule. Nachdem die Untersuchungsflüssigkeit in den Ionenaustauscher eingebracht war, wurde mit 10 ml Wasser nachgespült. Es wurde solange mit 2-normaler Salzsäure eluiert und es wurden so viele Einzelportionen zu 5 ml gesammelt, bis im letzten Röhrchen kein Hexosamin mehr nachweisbar war. Wenn bei der Elution eine genügend langsame Tropfenfolge eingestellt war, enthielten die ersten 20 ml das gesamte Hexosamin. Zum Regenerieren wurden erst 12 ml einer 2-normalen Natronlauge dann 15 ml einer 2-normalen Salzsäure durchfließen gelassen. Danach ist die Säule wieder verwendungsfähig. In gleicher Weise erfolgte auch die Präparierung des Harzes.

Die nachfolgende Tabelle gibt die im Eluat gefundene Glukosaminmenge in Abhängigkeit von der auf die Säule gegebenen Glukosaminmenge wieder.

Tabelle 15

Ergebnisse der Vorversuche mit dem Ionenaustauscher Dowex 50

Aufgegebenes Glukosamin in Gamma	Im Eluat erhaltenes Glukosamin in Gamma	Prozentuale Ab- weichung
100	102	+ 2
200	180	- 10
300	290	- 4
400	410	+ 2
500	500	0
600	510	- 15
700	690	- 1
800	805	0
900	900	0
1000	940	- 6
1100	1140	+ 3
1200	1180	- 2
1300	1310	+ 1
1400	1320	- 6
1500	1350	- 10

Bestimmung des Hexosamin

Prinzip: Zucker mit einer an C₁ oder C₂ befindlichen Amino-
gruppe geben mit EHRLICHs Reagens nach Vorbehandlung mit
Acetylaceton in Alkali eine rosa Farbe (ELSON und MORGAN²⁵).

Ausführung: (BOAS⁹): Zu einem 1 - 3 ml Anteil des Salzsäureeluats aus der DOWEX-Säule gibt man in einem 10 ml Meßkolben einen Tropfen 1/2 %-igen Phenolphthaleins in Alkohol und soviel 4-normale Natronlauge bis der Indikator umschlägt und anschließend wieder soviel 0,5-normale Salzsäure, daß der Indikator gerade farblos wird. Ein Glukosaminstandard und ein Leerwert werden in gleicher Weise behandelt. Um die Salzkonzentrationen in allen Proben gleich zu halten, setzt man dem Leerwert und dem Kontrollwert soviel 4-normales NaCl zu, wie aus der Salzsäure in den Proben entstanden ist. Nun bringt man das Volumen in allen Kolben mit Wasser auf die gleiche Menge, gibt 1 ml Acetylaceton-Reagens (2% Vol/Vol Acetylaceton in 1 n. Natriumkarbonat) zu und verschließt die Kölbchen. Beim Hinzufügen des Acetylacetonreagens tritt wieder eine Rotfärbung auf, die auf die Anwesenheit des Indikators zurückzuführen ist und bei einem späteren Arbeitsgang wieder verschwindet. Dann stellt man alle Gefäße in ein Wasserbad von 89 bis 92°C für 45 Minuten. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur gibt man 2,5 ml reinen Äthanol zu und mischt gut durch. Danach verschwindet die rote Farbe wieder. Anschließend gibt man 1 ml Ehrlichs Reagens (2,67% Dimethylaminobenzaldehyd in Salzsäurealkohol) zu. Nach sorgfältigem Mischen werden die Gefäße mit Äthanol auf 10 ml aufgefüllt. Man läßt die Kölbchen nun eine Stunde stehen und mißt bei 530 mμ im Zeißspektrophotometer.

V. Zusammenfassung

Die progressive Sklerodermie ist durch typische klinische Erscheinungen und einen charakteristischen Verlauf ein wohl definiertes Krankheitsbild, dessen Ursache jedoch unbekannt ist.

Da klinisch-chemische Laboratoriumsuntersuchungen der Körperflüssigkeiten keine eindeutigen Befunde liefern, suchten wir durch chemische Analysen, die d i r e k t a m k r a n k h a f t v e r ä n d e r t e n H a u t b i n d e g e w e b e durchgeführt wurden, nach einer Möglichkeit, Näheres über die Pathogenese der Erkrankung zu erfahren.

Aus den Ergebnissen der histologischen, histochemischen, elektronenoptischen und röntgenspektroskopischen Verfahren ist bekannt, daß das entzündlich ödematöse Anfangsstadium durch eine Homogenisierung und Hyalinisierung der Kollagenfaserbündel gekennzeichnet ist. Wie die elektronenmikroskopischen Untersuchungsmethoden ergeben haben, sind dabei die einzelnen kollagenen Fibrillen völlig normal gebaut. Daher muß man annehmen, daß bestimmte Stoffe an das Kollagen adsorbiert sind. Die histochemischen Befunde deuten auf eine Anreicherung saurer Mucopolysaccharide hin. Für eine Vermehrung derartiger Substanzen sprechen auch die Ergebnisse der Stoffwechseluntersuchungen mit radioaktivem Sulfat und die therapeutischen Erfolge der Hyaluronidaseiontophorese und der Hyaluronidaseinfiltration.

Im indurativen Stadium findet man eine Vermehrung und Verdichtung der Fasern. Röntgeninterferenzuntersuchungen haben eine Verminderung des intermicellären Materials ergeben. Histochemisch ist in diesem Stadium eine Mucopoly-

saccharidvermehrung nicht mehr nachweisbar.

Zuletzt kommt es zu einer Hautatrophie mit Sklerosierung der Gefäße und Verdünnung des Coriums und der Epidermis.

Aufgrund all dieser Befunde erschien es uns erfolgversprechend, nach Veränderungen der Zusammensetzung derjenigen Substanzen zu suchen, von denen bekannt ist, daß sie der Grundsubstanz des Bindegewebes angehören. Eine pathologische Zusammensetzung der Faserproteine war besonders nach den Ergebnissen der Elektronenmikroskopie nicht zu erwarten.

Es wurde eine Reihe von Gewebeproben analysiert, die verschiedenen Krankheitsstadien angehörten. Insgesamt wurden 4 Patienten untersucht: Bei Patient 1 lag ein Odemstadium vor, Patient 2 war im indurativen Stadium und Patient 3 bereits im Stadium atrophicum. Von Patient 4 war das Stadium der Erkrankung nicht bekannt (Fall X).

Es wurden bestimmt der Gesamtstickstoff, der Extraktstickstoff, der Gesamthexosamingehalt sowie die Hexosamin- und Uronsäurekonzentrationen der Mucopolysaccharidfraktion. Die Ergebnisse wurden auf das Trockengewicht des entfetteten Gewebes bezogen. Der Gesamtstickstoffgehalt lag bei allen vier Patienten im Bereich der Norm.

Der Extraktstickstoff wurde in drei Fällen untersucht: Er war vermindert im ödematösen Stadium und normal im atrophischen Stadium. Im Fall X wurde eine Verminderung festgestellt. Der Gehalt an Gesamthexosamin wurde in allen vier Fällen untersucht, er war bei allen Patienten deutlich vermehrt, am stärksten im indurativen und atrophischen

Stadium. Die Hexosamin- und Uronsäurekonzentration der Mucopolysaccharidrohfraktion konnte nur in zwei Fällen untersucht werden. Dabei war der Hexosaminanteil stets vermehrt, am meisten im Ödemstadium, während der Uronsäuregehalt im Stadium ödematösus vermindert war.

Der Quotient des Molenverhältnis Hexosamin zu Uronsäure war im sklerodermatischen Hautbindegewebe gegenüber dem Normalen vermindert; das heißt, der Hexosaminanteil war höher als der Uronsäureanteil. Besonders deutlich war diese Verschiebung im Ödemstadium.

Aus diesen Untersuchungsergebnissen kann bei aller Vorsicht wegen des geringen Materials vorläufig folgender Schluß gezogen werden: Im ödematösen Stadium ist der Gehalt an löslichen Proteinen vermindert. Die Hexosaminkonzentration ist sowohl im Gesamtgewebe als auch in der Mucopolysaccharidfraktion vermehrt.

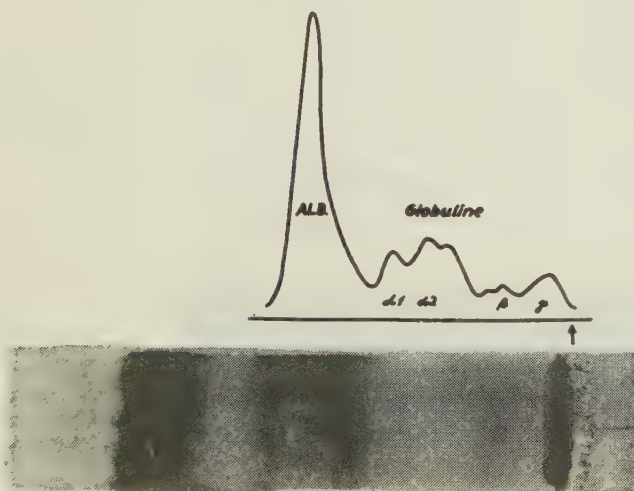
Im indurativen Stadium nimmt der Hexosamingehalt offenbar weiter zu.

Im atrophischen Stadium wird der Extraktstickstoff normal gefunden; die Hexosamine sind im Gesamtgewebe vermehrt.

Bei der Errechnung des Quotienten aus dem Molenverhältnis Hexosamin zu Uronsäure zeigt es sich, daß die Mucopolysaccharide nicht nur quantitativ sondern auch qualitativ vom Normalen abweichen.

Abb. 1

Elektrophoresediagramm eines Veronalpufferextraktes
aus normalem menschlichen Hautbindegewebe



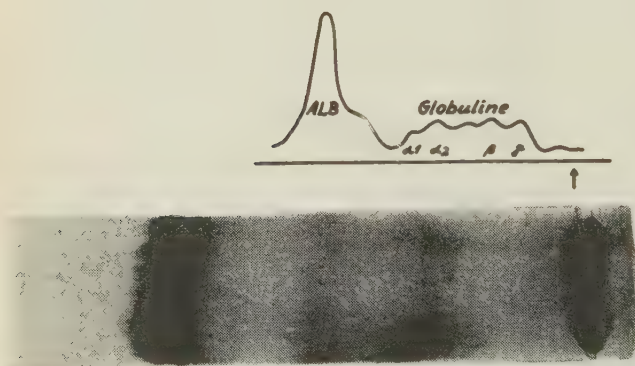
Zur Abtrennung der löslichen Proteine wurde frisches Bindegewebe in einem Bühler-Homogenisator zerkleinert und mit 15 Teilen Veronalpuffer von pH 8,6 extrahiert. Der Extrakt wurde einer 24-stündigen Dialyse gegen destilliertes Wasser unterworfen.

Die Elektrophorese wurde mit einem Elphor-Gerät ausgeführt. (Filterpapier: Whatman Nr 1, Pufferlösung: Veronal-Natrium pH 8,6 Stromdurchgang 2 mA und 145-160 V. Entwicklung: Amidoschwarz)

SCHLEEDE

Abb. 2

Elektrophoresediagramm eines Veronalpufferextraktes
aus sklerodermatischem Hautbindegewebe



Bei Sklerodermie ist im Vergleich zu normaler Cutis
wenig Albumin vorhanden. Kaum unterschiedlich ist die
mengenmäßige Zusammensetzung der Globuline. Alpha 1 und
Alpha 2 treten gegenüber Beta und Gamma geringfügig
zurück

SCHLEEDE

VI. Literaturverzeichnis

1. AIZAVA J. Biochemical studies on carbohydrates
Tohoku J. Exper. Med. 65 375-381 1957
2. ALTSCHULER C.H. Histological studies on the pathogenesis of
ANGELOINE D.H. fibrinoid degeneration
Am. J. Path. 25 1061 1949
3. ARNOLD H.L. Fatal scleroderma with L.E.-phenomenon
TILDEN J.H. Arch. of Dermat. 76 427-430 1957
4. BAHR G.F. Elektronenmikroskopische Untersuchungen
SCHUERMAN H. bei progressiver Sklerodermie, Lupus ery-
CRECELIUS G. thematodes und Akrodermatitis chronica
atrophicans
Hautarzt 2 513-514 1951
5. BAHR G.F. Elektronenmikroskopische Untersuchungen
bei Sklerodermie
Ärztl. Forsch. 10 I 255-266 1956
6. BALDWIN zit. bei CUNO A. Dissertation 1962
Frankfurt am Main
7. BAUMBERGER J.P. Methods for separation of epidermis from
SUTZEFF V. dermis and some physiologic and chemical
COWDREY E.V. properties of isolated epidermis
J. Nat. Cancer Invest. 2 413-423 1942
8. BEIKERT A. Zur Frage der Spezifität des Lupus erythe-
GEIDEL H. matodes Phaenomen
Ärztl. Wschr. 14 561 1959
9. BOAS N.F. Method for the determination of hexos-
amines in tissue
J. of biol. Chem. 204 553-563 1953
10. BRAUN-FALCO O. Histochemische und morphologische Studien
an normaler und pathologisch veränderter
Haut
Arch. Derm. Syph. 198 111-198 1954
11. BRAUN-FALCO O. Weitere Untersuchungen am homogenen Anteil
des subepidermalen Grenzstreifens normaler
menschlicher Haut
Arch. klin. exper. Dermat.
201 521-530 1955

12. BRAUN-FALCO O. Examens biochimique et histochimique
 SAALFELD K. de l'elastose senile
 Bull. Soc. Franz. Dermat. Syph.
 64. 586-588 1957

13. BRAUN-FALCO O. Histochemie des Bindegewebes
 Arch. klin. exper. Dermat.
 206 319-344 1957

14. BRAUN-FALCO O. Über das Verhalten der interfibrillären
 Grundsubstanz bei Sklerodermie
 Dermat. Wschr. 136 1085-1092 1957

15. BRAUN-FALCO O. Der Neuraminsäuregehalt des Serums
 bei verschiedenen Dermatosen
 Arch. klin. exper. Dermat.
 210 641 1960

16. BURBACH I.P.E. Serum mucoprotein level in various
 diseases of skin
 Dermatologica 111 65-86 1955

17. CAWLEY E.P. An examination of skin from patients
 Mc MANUS I.F.A. with collagen disease utilizing the
 LUPTON Ch.H. combined Alcian blue periodic acid
 WHEELER C.E. Schiff stain
 J. Invest. Dermat. 27 389-394 1956

18. CHOREMIS K. Ein Fall von diffuser Sklerodermie mit
 MOSCHIDIS Ch. allgemeiner Melanodermie und Akrozyanose
 BASTIS B. bei einem 12 jährigem Mädchen
 KLOSSOGLOU K. Helvet. paediat. acta
 11 187-193 1956

19. COOPER D.R. The soluble proteins of bovine hide
 JOHNSON P. Biochim. biophys. Acta (Amst.)
 30 590-597 1958

20. CORNBLEED T. Calcium metabolism in scleroderma
 STRUCK H.C. Arch. Derm. Syph. 35 188-195 1937

21. DAVIDSON A. J. Am. Chem. Soc. 76 5686 1954
 MEYER K.

22. DISCHE Z. A new specific color reaction of
 Hexoronic acid
 J. biol. Chem. 167 189-198 1947

- | | | |
|--|--|------|
| 23. DUPONT A.D. | Remarques au sujet de la structure histologique des lésions cutanées du lupus érythémateux, de dermatomyosites de la périarterite noueuse et de sclero-dermies
Bull. Soc. Franc. Derm. Syph.
<u>64</u> 609-611 | 1957 |
| 24. DZIETWIATKOWSKI D. | Rate of excretion of radioactive sulfur and its concentration in some tissues of the rat after intra-peritoneal administration of labeled sodium sulfate
J. biol. Chem. <u>178</u> 197 | 1949 |
| 25. ELSON L.A.
MORGAN W.T. | Biochem. J. <u>27</u> 1824
zit. bei N.F. BOAS
J. biol. Chem. <u>204</u> 553-563 1953 | 1933 |
| 26. EPSTEIN E.
EYRES S. | Creatinuria in scleroderma
J. Laborat. clin. Med. (St. Louis) <u>22</u> 697-699 | 1937 |
| 27. FISCHER F.G.
DÖRFEL H. | Die papierchromatische Trennung und Bestimmung der Uronsäuren
Hoppe Seylers Zschr. physiol. Chem. <u>301</u> 224-229 | 1955 |
| 28. GANS O.
STEIGLEDER G. | Histologie der Hautkrankheiten
Springer Verlag | 1955 |
| 29. GERBER G.
GERBER Gisela
ALTMANN K. | Studies on the metabolism of tissue proteins. Turnover of collagen labeled with proline U-C ¹⁴ in young rats
J. Biol. Chem. <u>235</u> 2653-2656 | 1960 |
| 30. GLEGG R.E.
EIDINGER O. | Method for fractionating carbohydrate components of bone
Arch. biochem. biophys. <u>55</u> 19-24 | 1955 |
| 31. GRUPPER Ch.
GONNARD P.
LEGRAND J.Cl. | Collagenose et métabolisme des acides aromatiques
Bull. Soc. Franc. Derm. Syph. <u>66</u> 505-510 | 1959 |
| 32. HALL D.A.
HAPPY P.F.
LLOYD P.F.
SAXL H. | Oriented cellulose as a component of mammalian tissue
Proc. roy. Soc. (London) <u>151</u> 497-516 | 1960 |

33. HARKNESS R.D.
MARKO A.M.
MUIR N.
NEUBERGER A. The metabolism of collagen and
 other proteins of the skin of,
 rabbits
 Biochem. J. 56 558-569 1954

34. HARTMANN F. Neuere Ergebnisse der Bindege-
 websforschung
 Z.f. Rheumaforsch. 17 445-468 1958

35. HOFMAN P.
LINKER A.
MEYER K. The acid mucopolysaccharides
 of connective tissue: The sulfate
 linkage
 Biochem. biophys. Acta
 30 184-185 1958

36. HÖRMANN H. Die Kohlenhydrate des Bindege-
 webes
 Beitr. Silikoseforsch.
 2 619-643

37. HOSODA Y. Studies on granulation tissue:
 Soluble collagen in wound healing
 Keio J. Med. 2 261-286 1960

38. JACKSON D.S. Connective tissue growth stimula-
 ted by Ca rraeenin
 Biochem. J. 65 277-284 1957

39. KAMINSKY A.
MANCINI R.
BOSQUE J. Histochemische Studie bei
 Sklerodermie
 Arch. Argent. Dermat. 3 529 1953

40. KAPESSER W. unveröffentlicht Univ. Hautklinik
 Frankfurt am ^{Main}

41. KOGOJ M.F. La conception des maladies du
 collagen
 Bull. Soc. Franc. Derm. Syph.
 64 581-585 1957

42. KOSROVI A. Dissertation 1962
 Frankfurt Main

43. KUSUNOKI T. Der Kalkstoffwechsel bei
 Sklerodermie
 Dermat. Wschr. 1 627-632 1939

44. O LEARY P.A.
MONTGOMERY H.
RAGSDALE W. Dermatohistopathology of various
 types of scleroderma
 AMA Arch. Dermat. 55 78-87 1957

45. LERICHE R.
JUNG A. Bull. Soc. Franc. Derm. 42 1935
zit. bei Kaether H. und Schaefer P.
in Klin. Wschr. 19 353 1940
46. LEVER W.F. Histopathology of the skin
Philadelphia 1954
47. LEVEVRE K.U.
TOLLENS B. Ber. dtsch. Chem. Gesellschaft.
40 4513 1907
48. MACHER E.
BREHLER B. Röntgeninterferenzuntersuchungen
bei der Sklerodermia diffusa und
circumscripta
Hautarzt 9 409-418 1958
49. MACHER E. Feinstruktur an der Haut bei der
Sklerodermia diffusa und circum-
scripta
Arch. klin. exper. Dermat.
206 759-743 1957
50. MIEHLKE K. Die Rheumafibel
Springer Verlag 1961
51. MOSS L.A. The carbohydrate of collagen
Biochem. J. 61 151 1955
52. RUSSO L.A. A contribution to the pathogenesis
of the changes in the collagen
ground substance equilibrium in
morphea
Brit. J. Dermat. 66 377-387 1954
53. MÜLLING D.
LANGHOF H.
JOREMANN V. Die Aminosäurezusammensetzung
gesunder menschlicher Haut
Z. Klin. Med. 152 495-499 1955
54. NAGEOTTE J. zit. bei D.S. JACKSON
Biochem. J. 65 277-284 1957
55. NISHIMURA N.
YASUI M.
KANAGAWA K.
HOSANE J.
SHIBATA Y. Intermediary metabolism of phenyl-
alanine and tyrosine in diffuse
collagen disease
AMA Arch. Dermat. 77 255-262 1958
56. NISHIMURA N.
MURADA K.
YASUI M.
OKAMOTO H.
HAYASHIYAKA M.
TOSHIMA H. Phenylalanine and tyrosine in
Collagen disease
Arch. Dermat. 83 644-652 1961

- | | | |
|--|--|------|
| 57. NOGER- MORE | Traitement des sclerodermies par infiltrations d'hyaluronidase et hydrocortisone
9. Congr. Assoc. Derm. Langue Franc.
284 | 1958 |
| 58. OREKOVITCH V.N.
SHIKTTER V.O. | Procollagen
Science <u>127</u> 3311 | 1958 |
| 59. PARHON C.I.
WERNER G.H. | Wassergehalt und Lipoidgehalt der Haut und einiger anderer Organe bei einem Sklerodermiefall
Bull. Sect. Endocrin. Soc. roum. Neur.
4 183-184
Ref. in Zbl. Haut=u.Geschlechtskrh.
<u>62</u> 209 1939 | 1938 |
| 60. PARHON C.I.
WERNER G.H. | Zur Diagnose und Therapie der Sklerodermie
Zschr. Haut=u.Geschlechtskrh. <u>7</u> 395 | 1949 |
| 61. PARHON C.I.
MILCO St. | Einseitige Sklerodermie mit erhöhtem Blutcalciumspiegel
Bull. Sect. Endocrin. Soc. roum. Neur.
4 3-10
Ref. in Zbl. Haut=u.Geschlechtskrh.
<u>62</u> 209 1939 | 1938 |
| 62. PARTRIDGE S.M.
DAVIS H.F.
ADAIR G.F. | The chemistry of connective tissue
Biochem. J. <u>61</u> 11-30 | 1955 |
| 63. PEARSE R.E.
WATSON E.M. | The mucopolysaccharides of human skin
Canad. J. Res. Sect. E.Med. Sci.
<u>27</u> 43-57 | 1949 |
| 64. POPKIN R.J. | The use of hyaluronidase by iontophoresis in the treatment of generalized scleroderma
J. Invest. Dermat. <u>16</u> 97-102 | 1951 |
| 65. POPKIN R.J. | The use of hyaluronidase in the treatment of chronic skin ulcers in diffuse generalized scleroderma
Angiology <u>3</u> 335-342 | 1952 |
| 66. PRICE J.M.
BROWN P.D.
RUKAVINA J.G.
MENDELSON Ch.
JOHNSON S.A.M. | Scleroderma: Tryptophanmetabolism before and during treatment by chelation
J. Invest. Dermat. <u>29</u> 289-298 | 1957 |

67. REED R.
SEVILLE R.H.
TATTERSALE R.N. Werners syndrome
Brit. J. Dermat. 65 165 1953
68. REICH O. Histologische Untersuchungen bei
diffuser progressiver Sklerodermie,
circumscripiter Sklerodermie, und
sklerodermieähnlichen Veränderungen
bei Akrodermatitis chronica
atrophicans
Arch. Derm. Syph. 191 505-514 1950
69. SIRSAT S.M. Electron mikroskopic and histochemical
study of scleroderma
Indian J. Med. Sci. 10 386-388 1956
70. SCHLEEDE I. unveröffentlicht Univ. Hautklinik
Frankfurt am Main
71. STAVA Z. Serum proteins in scleroderma
Dermatologica (Basel) 117 147-153 1958
72. STOUGHTON R.
WELLS G. A histochemical study on polysaccha-
rides in normal and diseased skin
J. Invest. Dermat. 14 37-51 1950
73. STOUGHTON R.
DENKO C. Diskussionsbemerkung in
J. Invest. Dermat. 14 27 1950
74. SZODORAY L.
TUZA C.E. Über die Histochemie der Sklerodermie
Hautarzt 11 63-67 1960
75. TUI C.
KUO H.H.
SIMUANGHO S. Protein studies in scleroderma
J. Invest. Dermat. 15 181-203 1950
76. WEISCHMANN B.
MEYER K.
SAMPSON P.
LINKER A. Isolation of oligosaccharides enzy-
matically produced from hyaluronic
acid
J. biol. Chem. 208 417-429 1954
77. WEINSTEIN G.D.
BOUCEK R.J. Collagen and elastin of human
dermis
J. Invest. Dermat. 35 227-229 1960
78. WOLTERS M. Zur pathologischen Anatomie
der Sklerodaktylie
Arch. Derm. Syph. 24 583 1892

79. WORINGER F. Hypothese sur l'histopathophysiologie du collagene Mc Manus positif
Bull. Soc. Franc. Dermat. Syph. 61 115-117 1954
80. WORINGER F. L'histologie des sclerodermies
LAUGIER P. est-elle univoque?
Bull. Soc. Franc. Dermat. Syph. 64 612-622 1957
81. WINDRUM G.M. Constitution of human renal
KENT P.W. reticulin
EASTOE J.E. Brit. J. exper. Path 36 46-59. 1955
82. NYKOFF R.W.G. Proc. Soc. exper. Biol. 34 285 1936
COREY R.B. zit. bei D.S. JACKSON
Biochem. J. 65 277-284 1957
83. LEINWAND J. Scleroderma
J. Invest. Dermat. 16 97 1951

Lebenslauf

Am 7. Mai 1936 wurde ich als dritter Sohn des praktischen Arztes Dr. Wilhelm Georg Kramer in Egelsbach, Kreis Offenbach am Main geboren. Nach dem Besuch der Volksschulen Egelsbach und Bad Wimpfen am Neckar trat ich im Herbst 1946 in das humanistische Ludwig Georgs-Gymnasium in Darmstadt ein, wo ich am 27. Februar 1956 die Reifeprüfung bestand. Im Sommer-Semester 1956 begann ich das Studium der Medizin an der Johann Wolfgang Goethe-Universität in Frankfurt am Main und bestand am 27. Februar 1962 das ärztliche Staatsexamen. Als Medizinalassistent arbeitete ich an den Universitätskliniken in Frankfurt/Main und im St. Markuskrankenhaus Frankfurt/M. Zur Zeit bin ich an der chirurgischen Klinik des Elisabethenstifts in Darmstadt tätig.

Frankfurt/Main, August 1963

Wolfgang Kramer

Meine akademischen Lehrer waren:

Prof.Dr. Aitmann
Prof.Dr. Artelt
Prof.Dr. de Rudder
Prof.Dr. Felix
Prof.Dr. Geisendörfer
Prof.Dr. Guntz
Prof.Dr. Hoff
Prof.Dr. Holtz
Prof.Dr. Leonhardi
Prof.Dr. Lewin
Prof.Dr. Martin
Prof.Dr. Radenbach
Prof.Dr. Sandritter
Prof.Dr. Starck
Prof.Dr. Weise
Prof.Dr. Weßler
Prof.Dr. Wieland

Ehrenwörtliche Erklärung.

Ich erkläre ehrenwörtlich, das ich die der Medizinischen Fakultät Frankfurt/Main zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel: Chemische Untersuchungen am Hautbindegewebe bei progressiver Sklerodermie in der Universitäts-Hautklinik unter Leitung von Prof. Dr. G. Leonhardi mit Unterstützung durch Frau Dr. L. Lehner ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Ich habe bisher an keiner in- und ausländischen Medizinischen Fakultät ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht noch die vorliegende Arbeit als Dissertation vorgelegt.

Frankfurt/Main, den 25.10.1963

.....*Walter Göttsch*.....
Unterschrift

Abschließend möchte ich Herrn Prof. Dr. G. Leonhardi für die Überlassung des Themas und die freundliche Hilfe beim Anfertigen der Dissertation sowie Frau Dr. phil. nat. L. Löhner für die Unterstützung und Beratung bei der Durchführung der chemischen Untersuchungen danken.

